

Aus dem Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie  
(Leiter: Prof. Dr. med. E.Köttgen)  
in Zusammenarbeit mit der  
Abteilung für Parodontologie und Synoptische Zahnmedizin  
Zentrum für Zahnmedizin  
(Leiter Prof. Dr. med. Dr. med. dent. J.-P. Bernimoulin)  
der Medizinischen Fakultät Charité  
der Humboldt-Universität zu Berlin

## DISSERTATION

# Speichelglykane als Adhäsionsfaktoren bei rasch fortschreitender Parodontitis

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae dentariae (Dr. med.dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité  
der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Herrn Mathias Jancke

geb. am 06.04.1959 in Frankfurt/Main

Dekan: Prof. Dr. med. Joachim W. Dudenhausen

Gutachter:      1. PD Dr. Andreas Kage

                         2. Prof. Dr. Günter Siegel

                         3. Prof. Dr. Michael Noack

Datum der Promotion: 21. Januar 2002

### Zusammenfassung

Glykane aus exokrinen Drüsen stellen ein Schutzsystem der Schleimhautoberflächen dar, indem sie an mikrobielle Adhäsine binden und dadurch Einfluß auf die mikrobielle Besiedelung und Invasion des Wirtes nehmen. 11 Patienten mit rasch fortschreitender Parodontitis (RPP) wurde über jeweils 20 Minuten in Ruhe und unter adrenerger Belastung Speichel aus den großen Speicheldrüsen entnommen und in einem kompetitiven Lektinbindungsinhibitionstest auf die Bindungsfähigkeit an 8 verschiedene Pflanzenlektine untersucht. Patienten mit RPP zeigen ein anderes Verteilungsmuster der antiadhäsiven Glykane als die Kontrollgruppe. Sie zernieren u.a. aus den Unterkieferdrüsen konstant signifikant mehr Glykane mit endständigen Mannosegruppen, aus der Parotis dagegen nur unter adrenerger Stimulation. Dies zeigt die unterschiedliche Funktion der Drüsen bei der Beeinflussung des Milieus in der Mundhöhle als auch einen unterschiedlichen Erregungszustand des Schleimhautschutzsystems bei Erkrankten und Kontrollen. Aus den Ergebnissen können sich diagnostische Aspekte für das Risiko und den Aktivitätszustand einer parodontalen Erkrankung ergeben.

Schlagwörter:

rasch fortschreitende Parodontitis

Speichelglykane

Lektine

mikrobielle Adhäsion

## Abstract

### **Abstract**

Glycans from exocrine glands create a defense system of the mucosal surfaces by binding to microbial adhesins and interfering with colonisation and invasion of the host. Saliva from 11 patients with rapidly progressive periodontitis (RPP) was collected over a period of 20 minutes each in rest and during adrenergic stimulation. The samples were tested for binding properties to 8 different plant lectins by a competitive lectin binding inhibition test. A pattern of anti-adhesive glycans different from the control group is secreted in patients with RPP. The latter constantly secrete significantly more glycans with terminal mannose from the mandibular glands. In the parotis this is only the case during adrenergic stimulation. This demonstrates the different purpose of the glands in maintaining the oral milieu as well as different states of activity of the mucosal defense system in RPP patients and controls. Diagnostic aspects for risk and activity of periodontal diseases can be drawn from these findings.

### Keywords:

rapidly progressive Periodontitis

salivary glycans

lectins

microbial adhesion

Widmung

Für meine Eltern

	Vorwort	4
1	Einleitung	5
1.1	Ätiologie der Parodontitis	5
1.1.1	Bakterielle Aspekte	8
1.1.1.1	Plaquebildung	8
1.1.1.2	Parodontalpathogene	10
1.1.2	Wirtsfaktoren.	12
1.2	Speichel	14
1.2.1	Speichelproteine	14
1.2.2	Glykoproteine des Speichels	15
1.2.3	Innervation der Speicheldrüsen	19
1.2.4	Steuerung der Glykoproteinsynthese	21
1.3	Adhäsion versus Antiadhäsion	22
1.3.1	Lektine	24
1.4	Arbeitshypothese	26
2	Material und Methode	27
2.1	Auswahl der Probanden	27
2.1.1	Minimalwerte	28
2.1.2	Maximalwerte	29
2.1.3	Kontrollen	31
2.2	Probenentnahme	32
2.2.1	Apparatur	33
2.2.2	Vorgehensweise	36
2.3	Probenverarbeitung	38
2.4	Statistik	44
3	Ergebnisse	45
3.1	Speichelmenge	45
3.2	Lektinbindung	49
3.2.1	Vergleich RPP mit Kontrollen in Ruhe und unter körperlicher Belastung	50
3.2.1.1	Lektin Anguilla Anguilla Agglutinin	50
3.2.1.2	Lektin Concanavalin A	53

3.2.1.3	Lektin Galanthus Nivalis Agglutinin	56
3.2.1.4	Lektin Griffonia Simplicifolia Agglutinin	57
3.2.1.5	Lektin Weizenkeim Agglutinin	59
3.2.2	Veränderungen durch körperliche Belastung innerhalb der Gruppen	60
3.2.2.1	Lektin Anguilla Anguilla Agglutinin	61
3.2.2.2	Lektin Concanavalin A	62
3.2.2.3	Lektin Galanthus nivalis Agglutinin	65
3.2.2.4	Lektin Griffonia Simplicifolia Agglutinin	68
3.2.2.5	Lektin Sambucus Nigra Agglutinin	68
3.2.2.6	Lektin Weizenkeim Agglutinin	70
4	Diskussion	72
4.1	Grundlagen der Untersuchung	72
4.1.1	Parodontitis als Modell	72
4.1.2	Auswahl der Probandengruppe	73
4.1.2.1	Präpubertäre Parodontitis	74
4.1.2.2	Juvenile Parodontitis	74
4.1.2.3	Erwachsenenparodontitis	74
4.1.2.4	Rasch fortschreitende Parodontitis	75
4.1.3	Speichel als Medium	79
4.1.4	Gewinnung der Speichelproben	82
4.1.5	Wertung der Apparatur zur Speichelgewinnung	85
4.2	Wertung der Ergebnisse	86
4.2.1	Speichelflußrate	86
4.2.2	Lektinbindung	94
4.2.2.1	Parotissekrete	94
4.2.2.1.1	Bindungsfähigkeit an das Lektin AAA	94
4.2.2.1.2	Bindungsfähigkeit an die Lektine ConA und GNA	95
4.2.2.1.3	Bindungsfähigkeit an das Lektin SNA	97
4.2.2.1.4	Bindungsfähigkeit an das Lektin VVA	98
4.2.2.1.5	Bindungsfähigkeit an das Lektin WGA	100
4.2.2.2	Sekrete der Gll. submandibulares/sublinguales	101

4.2.2.2.1	Bindungsfähigkeit an das Lektin AAA	101
4.2.2.2.2	Bindungsfähigkeit an das Lektin PNA	102
4.2.2.2.3	Bindungsfähigkeit an die Lektine ConA und GNA	102
4.2.2.2.4	Bindungsfähigkeit an das Lektin GS1	103
4.2.3	Aussagekraft der Ergebnisse	103
4.2.4	Vergleichende Betrachtung der Drüsen	104
Literaturverzeichnis		106
Anhang		123
1	Materialien und Geräte für die Untersuchung	123
1.1	Laborgeräte und Instrumente	123
1.2	Puffer	123
1.3	Lektine	124
1.4	Standards und Beschichtungen	124
1.5	Färbung	125
Abkürzungsverzeichnis		126
Danksagung		128
Lebenslauf		129
Erklärung		131



**Vorwort**

Die vorliegende Arbeit wurde als interdisziplinäre Forschung zwischen der Abteilung für Parodontologie und Synoptische Zahnmedizin des Zentrums für Zahnmedizin und dem Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie der Charité, Humboldt Universität zu Berlin, durchgeführt, um dem Wissen um Wirtsfaktoren in der Ätiologie der Parodontitis neue Aspekte hinzuzufügen. Die Fragestellung entwickelte sich aus vorangegangenen Untersuchungen der beiden Abteilungen, die unterschiedliche Glykosylierungsmuster im Speichel von Probanden mit oralen Erkrankungen gegenüber Gesunden zeigten.

Mein persönliches Interesse an der Untersuchung entstand aus der praktischen Arbeit als Zahnarzt, bei der die Behandlung von Parodontitis einen großen Raum einnimmt. Die verheerenden Folgen einer Rasch Fortschreitenden Parodontitis (RPP) für das Gebiß eines jungen Erwachsenen werfen die Frage nach Mitteln auf, das Risiko für eine solche Erkrankung frühzeitig zu erfassen, um prophylaktische Maßnahmen ergreifen zu können.

Voraussetzung dafür ist das genaue Verständnis der mikrobiologischen Vorgänge in der Mundhöhle. Die vorgelegte Arbeit beschäftigt sich mit Glykokonjugaten im Speichel, die die Adhäsion von Bakterien an oralen Oberflächen beeinflussen. Die Sekretion von Kohlenhydratstrukturen in den Speichel unterliegt hormonellen und neurotransmittergesteuerten Regulationen. Unterschiede in der Reaktion von RPP-Patienten und Gesunden auf einen adrenergen Reiz sollten mit dieser Arbeit erforscht werden.

## 1 Einleitung

### 1.1 Ätiologie der Parodontitis

Als Parodontopathien werden allgemein die entzündlichen Erkrankungen des Zahnhalteapparates bezeichnet. Mit Ausnahme der Gingivitis, die ohne irreversible Folgen am Parodont über Jahre bestehen kann, führen diese Erkrankungen zu einem Abbau des alveolären Knochens und der desmodontalen Fasern. Dies führt im fortgeschrittenen Stadium zu Zahnlockerung und Zahnverlust (131).

Die Erkenntnis über die entzündliche Natur der Erkrankungen drückt sich aus in dem Wandel der Krankheitsbezeichnung von Parodontose, wie sie in der deutschen Bevölkerung noch weit verbreitet ist, zu Parodontitis, der heute gültigen klinischen Bezeichnung.

Trotz aller wissenschaftlichen Bemühungen der letzten Jahrzehnte ist Parodontitis eine Erkrankung mit unvollständig geklärter Ätiologie (47). Obwohl bereits der arabische Arzt Rhazas (850 - 923 v. Ch.) in seiner Abhandlung Albucasis (963 - 1013 v. Ch.) eine Beziehung zwischen Parodontitis und mikrobiellen Ablagerungen auf Zähnen herstellte und Fouchard 1728 und Pasch 1767 die Reinigung der Zähne als Parodontaltherapie empfohlen hatten (117), wurde der Zusammenhang zwischen entzündlichen Erkrankungen der zahntragenden Strukturen und bakteriellen Belägen erst vor 30 Jahren durch die klassische Studie von Löe et al. im heutigen Sinne der Wissenschaft bewiesen (90). Daraus entwickelte sich die unspezifische Plaquehypothese, die eine rein quantitative Veränderung der Plaque für die destruktiven Prozesse am Zahnhalteapparat verantwortlich macht (148). Sie ist Grundlage der heute noch gängigen Therapie der Parodontitis, nämlich der möglichst vollständigen Beseitigung bakterieller Beläge. Gestützt wird diese These von Untersuchungen, in denen Therapieerfolge mit der Intensität unspezifischer Kontrolle der Plaque korrelieren. Die Schwere des klinischen Erscheinungsbildes der Parodontitis geht bereits nach der einleitenden Hygienephase der Parodontaltherapie signifikant zurück (96).

Die regelmäßige professionelle Plaquekontrolle und optimale häusliche Mundhy-

giene nach erfolgter Parodontaltherapie ist für den Langzeiterfolg von entscheidender Bedeutung (89). Für die Mehrzahl der Fälle ist das absolut zutreffend. Viele, wenn auch nicht alle Patienten, reagieren auf eine konservative Behandlung durch Skaling und Wurzelglättung sehr gut, besonders in Kombination mit der Gabe eines Breitspektrumantibiotikums (107).

Es lassen sich jedoch nicht alle an Parodontitis erkrankten Individuen, selbst bei optimaler Nachsorge und Mundhygiene, zu einem dauerhaften Behandlungserfolg führen (93). Eine Minderheit von Fällen, in denen die gängige Therapie nicht erfolgreich ist, ließ Zweifel an der Allgemeingültigkeit der unspezifischen Plaquehypothese aufkommen. Es gibt bisher keine Indikatoren, mit denen vor Behandlungsbeginn auf eine konservative Therapie nicht ansprechenden Fälle identifiziert werden könnten (108). Therapie-refraktäre Fälle, Formen von besonderem Schweregrad (RPP) und solche mit einem festen Verteilungsmuster der Läsionen (juvenile Parodontitis) wurden zum Gegenstand intensiver Forschung. Die akuten Entzündungen in der rasch fortschreitenden Parodontitis wie auch die typischen Läsionen bei der juvenilen Parodontitis ließen sich statistisch nicht mit der Anhäufung bakterieller Plaque in Verbindung bringen. Auf der Suche nach dem Auslöser der mit schnellem Alveolarknochenabbau verlaufenden akuten Schübe wurden bei mikrobiologischen Untersuchungen von Plaqueproben einige Bakterienspezies häufiger oder in erhöhter Zahl in der Mikroflora der befallenen Zahnfleischtaschen gefunden.

Darauf basierend entwickelte sich die spezifische Plaquehypothese, die eine qualitative Veränderung der Plaque und das Überwuchern von parodontalpathogenen Keimen als Auslöser der entzündlichen Reaktion verantwortlich macht (143). Auf der Grundlage der spezifischen Plaquehypothese entwickelte sich eine intensive Erforschung der oralen Mikroflora und prädisponierender Wirtsfaktoren. Quantitative Verteilungsmuster verschiedener Bakterienspezies in parodontalen Läsionen führten zu der Annahme, daß man nicht mit nur einer Krankheit zu tun habe, sondern mit mehreren verschiedenen Erkrankungen mit unterschiedlicher Ätiologie und Wirtsantwort (46). Für die juvenile Parodontitis wurde sogar von

einer Infektion mit einem spezifischen Erreger (*Actinobacillus actinomycetem-comitans*) gesprochen (137).

Der schubweise Verlauf des destruktiven Prozesses ist vermutlich Ausdruck einer Interaktion von Mikroflora und Wirtsabwehr, die um einen labilen Gleichgewichtszustand schwankt. Milieuveränderungen in der Zahnfleischtasche führen zu einer überdimensionalen Vermehrung parodontalpathogener Keime, die eine heftige Abwehrreaktion des Gewebes auslöst. Neben der Reduktion der auslösenden Mikroorganismen findet durch sie auch eine Zerstörung des umliegenden Gewebes statt (139). Nach Einstellung eines neuen Gleichgewichtes sind im reparativen Prozess die epithelialen Gewebestrukturen durch eine größere Wachstumstendenz im Vorteil. Die Gingiva wächst an der Zahnwurzel entlang dem Desmodont entgegen und beschränkt damit den Knochen in seiner Defektfüllungstendenz. Eine Vertiefung der Tasche ist die Folge.

Unterschiedliche Taschentiefen bedeuten eine Bandbreite von verschiedenen ökologischen Milieus, die einer entsprechenden Vielzahl bakterieller Spezies in ihren Anforderungen gerecht werden können. Dies erhöht die Anzahl möglicher bakterieller Interaktionen und damit die Wahrscheinlichkeit, daß Pathogenitätsfaktoren zur Ausprägung und Wirkung kommen (138). Untersuchungen an therapie-refraktären Fällen ergaben das gehäufte Auftreten oder die Persistenz einzelner oder mehrerer parodontalpathogener Keime, die sich durch eine auf den speziellen Keim abgestimmte Antibiotikatherapie eliminieren ließen (136). Neuere Therapieformen wie die systemische und neuerdings auch die lokale Anwendung von Antibiotika als Adjuvantien zur instrumentellen und chirurgischen Therapie tragen diesen Erkenntnissen Rechnung (43, 112, 136).

Bei der durch konservative Therapie erfolgten Reduktion der Gesamtzahl der Keime werden natürlich auch die Parodontalpathogene erreicht. Durch regelmäßige häusliche Mundhygiene wird der Aufbau der Plaque bereits in einem Stadium unterbrochen, das von grampositiven Keimen dominiert ist. Dadurch besteht die Chance, daß sich eine mit gesunden Verhältnissen assoziierte Mikroflora etabliert und die ökologische Nische besetzt. Dies verhindert oder

verzögert das Auftreten einer Reinfektion mit parodontalpathogenen Keimen und damit eines Rezidivs.

Folgerichtig zielen heutige Therapieansätze in der Parodontologie nicht mehr so sehr auf die chirurgische Elimination der Zahnfleischtaschen sondern auf die Herstellung und Erhaltung eines ökologisch vorteilhaften Milieus auch in den vorhandenen Defekten.

#### 1.1.1 Bakterielle Aspekte

Gemeinsam ist allen Formen von Parodontitis und den Gingivitiden, daß sie durch bakterielle Besiedelung ausgelöst werden, die als Folge der Invasion von Mikroorganismen und/oder deren Produkten in das Wirtsgewebe eine Abwehrreaktion auslöst.

##### *1.1.1.1 Plaquebildung*

Die Bildung einer ausgereiften Plaque auf einer gereinigten Zahnoberfläche beginnt mit der Adsorption von Speichelglykoproteinen. Die durchschnittliche Dicke dieser Schicht, des Pellikels, erreicht nach 2 Stunden eine Stärke von ca. 100 nm und etwa 400 nm nach 24 - 48 Stunden (86). Sie enthält Amylase, saure und glykosylierte Prolin-reiche Proteine (PRP's), Statherine und Histatine. Hinzu kommen Proteinfragmente, die aus proteolytischer Aktivität des Speichels resultieren (58). Auf diesem Pellikel siedeln zuerst vorwiegend grampositive Kokken und in geringerer Anzahl grampositive Stäbchen. Der Anteil grampositiver Bakterien an der initialen Plaque beträgt 90 %. Die Streptokokken stabilisieren die frühe Plaque durch Produktion von extrazellulären Polysacchariden, die als Matrix und als Nahrungskohlenhydrate dienen.

Wird die Plaquebildung nicht durch Mundhygienemaßnahmen gestört, wächst die Gesamtzahl der Keime und es verschiebt sich bereits innerhalb der ersten zwei Tage das Spektrum der Mikroflora hin zu einem größeren Anteil an gramnegativen Kokken und Stäbchen. Am dritten und vierten Tag dieser klassischen Studie (90) wurden vermehrt Fusobakterien und filamentförmige Bakterien

gefunden. Am 5. bis 9. Tag kommen Spirillen und Spirochäten hinzu, so daß das komplexe Bild einer etablierten Plaque erreicht ist. Nach ca. 7 Tagen beträgt der Anteil grampositiver Kokken und Stäbchen nur noch 50 % (147). Durch das Dickenwachstum der Plaque entstehen sich in Sauerstoff- und Substratangebot unterscheidende Milieubereiche, die verschiedenen bakteriellen Spezies optimale Lebensbedingungen bieten.

Mit den Mechanismen des Aufbaus der dentalen Plaque haben sich zahlreiche Studien beschäftigt. Insbesondere die Adhäsion an orale Strukturen und die Koaggregation der Mikroorganismen rücken dabei in den Vordergrund. So fand Gibbons (40) eine hohe Affinität bestimmter Bakterienstämme an PRPs, zu denen *Actinomyces*, *Bacteroides* und einige Stämme von *Streptokokkus mutans* gehören. Eine hohe Selektivität der beteiligten Adhäsine kommt dadurch zum Ausdruck, daß innerhalb einer Spezies bestimmte Stämme adhärieren können, andere dagegen nicht. Interessanterweise binden einige Bakterien nur an PRPs, die an Hydroxylapatit adsorbiert sind, nicht aber an gelöste. Offensichtlich bewirkt die Adsorption der Moleküle eine Konformationsänderung und legt versteckte Bindungsstellen frei, von Gibbons „Cryptitope“ genannt. Ein anderes Beispiel für die Komplexität der Vorgänge ist die Wirkung von Neuraminidase auf das Adhäsionsverhalten unter anderem von Bakterien wie *Eikenella corrodens*, *Fusobakterium nucleatum* und *Bacteroides intermedius*, die als Parodontalpathogene angesehen werden. Diese Bakterien besitzen eine relativ verbreitete Spezifität für Galaktosylreste, die auf Erythrozyten, epithelialen Zellen und experimentellen Pellikeln durch Sialinsäuren verdeckt sein können und daher erst nach einer Behandlung mit Neuraminidase freigelegt werden. Der verstärkende Effekt von Neuraminidase auf die Adhärenz ist ein sicheres Indiz für die Bedeutung von desialylierten Kohlenhydraten bei der Interaktion. Enzyme vermutlich bakteriellen Ursprungs wie Proteasen (157) und Glykosidasen (99) inklusive der Neuraminidase kommen in Individuen mit Periodontitis und/oder schlechter Mundhygiene in höherem Maße vor als in gesunden Kontrollen.

Die Bindung von in Puffer gelösten *Porphyromonas* (früher *Bacteroides*) gingiva-

lis, ein mit rasch fortschreitender Parodontitis assoziierter Keim, an Erythrozyten und buccale epitheliale Zellen wird durch Speichel unterbunden. Derselbe Keim bindet auch an *Actinomyces* spp., was nicht von Speichelbestandteilen inhibiert werden kann. In einem in vivo Experiment konnte eine große Anzahl von *Porphyromonas gingivalis* 60 Minuten nach Gabe der Bakterien nur von plaquebedeckten Flächen isoliert werden, nicht jedoch von vorher gereinigten Arealen. Ein früheres Experiment mit *Bacteroides melanogenicus* zeigte das gleiche Ergebnis (39). Offensichtlich hat die vorhandene Plaque einen starken Einfluß auf die Kolonisation durch nachfolgende Spezies.

In dem Versuch, Vorgänge bei dem Aufbau der Plaque zu entschlüsseln, setzen sich mehrere Arbeiten mit dem Koaggregationsverhalten von Plaquebakterien auseinander. Eine gute Übersicht über die vielfältigen Interaktionen zwischen den beteiligten Spezies, unter denen *Fusobakterium nucleatum* eine pluripotente Mittlerrolle einnimmt, findet sich bei Kolenbrander (70). Die mögliche Erklärung für das primäre Wachstum einer Schicht grampositiver Streptokokken auf dem Pellikel ist die Fähigkeit dieser Bakteriengruppe zur Koaggregation innerhalb der Spezies, die von keiner anderen Art geteilt wird. Alle anderen getesteten Spezies sind in der Lage, mit anderen Bakterien zu koaggregieren, nicht jedoch mit solchen der eigenen Art (69).

#### *1.1.1.2 Parodontalpathogene*

Im zentralen Interesse der mikrobiologischen Erforschung der Mundhöhle steht die Isolierung von pathogenen Keimen aus der äußerst komplexen lokalen Mikroflora. Aus parodontalen Läsionen läßt sich gegenüber nicht pathologisch veränderten Bereichen auch innerhalb eines Individuums eine veränderte Plaquezusammensetzung isolieren (143). Die Populationen folgen einem Gradienten in den von ihnen geforderten Lebensbedingungen (91). So finden sich entsprechend der Milieuveränderungen von der offenen Mundhöhle hinein in den Sulcus gingivalis gehäuft Anaerobier und gramnegative Erreger (28), unter denen einige mit großer Wahrscheinlichkeit an der Auslösung der Erkrankung beteiligt sind.

Die Hinweise gehen aber nicht in Richtung einer spezifischen Infektion im Sinne Kochs, sondern machen eine Mehrzahl von Bakterien mit verschiedenen Pathogenitätsfaktoren für die Knochendestruktionen verantwortlich: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* (früher *Bacteroides intermedius*), *Camphylobacter rectus* (früher *Wolinella recta*), *Eikenella corrodens*, *Bacteroides forsythus*, Spirochäten und *Treponema* spp. u. a. werden mit parodontalen Erkrankungen in Verbindung gebracht (160). Sie sind an der Zusammensetzung der subgingivalen Plaque in aktiven Taschen zu einem höheren Prozentsatz beteiligt als in nicht aktiven Taschen, wohingegen andere Bakterien (*Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces* spp.) mit inaktiven Taschen assoziiert werden und ihnen eine möglicherweise protektive Wirkung zugesprochen wird (27). In verschiedenen Formen der Parodontitis werden unterschiedliche Keime regelmäßig gehäuft gefunden. So wird *Actinobacillus actinomycetemcomitans* eine Hauptrolle in der juvenilen Parodontitis zugeschrieben während in der RPP *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* und Spirochäten gehäuft gefunden werden. Das Vorkommen von Aa scheint aber auch in therapierefraktären Fällen der Erwachsenenparodontitis eine Rolle zu spielen.

Die Einordnung einer Spezies als parodontalpathogen und die Definition ihrer Rolle bei der Initiierung der Erkrankung stößt auf vielfältige Probleme. So werden alle verdächtigen Spezies auch in der Mundhöhle nicht erkrankter Personen und in nicht aktiven Taschen erkrankter Personen gefunden. Daher besteht die Vermutung, daß eine kritische Anzahl an Pathogenen überschritten sein muß, bevor die pathogene Wirkung auftritt, wobei diese Schwelle je nach Abwehrlage des Wirts verschieden hoch liegen kann. In Abhängigkeit von der Taschentiefe und den daraus resultierenden Milieufaktoren könnten bei demselben Individuum unterschiedliche Spezies nachgewiesen werden. Eine Vielzahl von mikrobiologischen Verfahren wird angewandt, um Plaqueproben zu untersuchen, wodurch Ergebnisse nicht vorbehaltlos miteinander vergleichbar sind. Keine dieser Methoden ist bisher in der Lage, sämtliche in einer Probe befindlichen Spezies zu



identifizieren. Je feiner die Methoden zur Identifikation einer Spezies werden, desto häufiger lassen sich Subspezies oder verschiedene Genotypen herausarbeiten, deren Pathogenität unterschiedlich sein kann (102).

Ein weiteres Problem stellt die Milieuveränderung dar, die mit der Entzündung in einer Läsion einhergeht. Manche Spezies finden erst dadurch die zu ihrer Vermehrung und/oder Ausprägung von Pathogenitätsfaktoren notwendigen Bedingungen, werden folglich gehäuft in diesen Läsionen gefunden und möglicherweise fälschlich als Initiatoren der Entzündung angesehen. Hinzu kommt, daß Interaktionen von verschiedenen Spezies symbiotischer oder hemmender Natur bis zur Übertragung von Pathogenitätsfaktoren die möglichen Wirkungen einzelner Spezies potenzieren und zwar mit jeder weiteren beteiligten Spezies um ein Vielfaches. Einen Überblick über die Schwierigkeit, die tatsächliche Rolle einer bakteriellen Spezies in der Ätiologie von Parodontopathien zu determinieren, haben Socransky und Haffajee gegeben (138).

#### 1.1.2 Wirtsfaktoren.

Auf der Suche nach prädisponierenden Faktoren für die Entwicklung einer Parodontitis wurden unterschiedliche Funktionsdefekte der zellulären Abwehr gefunden. Dies betrifft vor allem die früh einsetzenden und fulminant verlaufenden Formen. Systemische Erkrankungen, die mit generalisierten Defekten des Immunsystems vergesellschaftet sind, wie der juvenile Diabetes mellitus und die erworbene Immunschwäche AIDS, gehen häufig mit einer schweren Parodontitis einher. Erbliche Dysfunktionen des Phagozytensystems, die bei Down-Syndrom, Chediak-Steinbrinck-Higashi-Syndrom und des Papillon-Lefèvre-Syndrom auftreten, sind auffallend häufig mit sehr früh einsetzenden und fulminant verlaufenden Parodontopathien assoziiert (38).

Für die juvenile Parodontitis sind eine Reihe von Funktionsstörungen der phagozytierenden Zellen beschrieben worden. In 70 -75 % der Fälle ist die chemotaktische Antwort der neutrophilen Granulozyten reduziert. Die Monozyten sind zu einem geringeren Anteil ebenfalls betroffen (2, 22, 84, 154, 155). Die Bakterien-

phagozytose durch neutrophile Granulozyten ist bei den meisten Patienten mit juveniler Parodontitis ebenfalls eingeschränkt (22, 154). Für diese Form der Parodontitis wird eine erbliche Disposition diskutiert. Sie tritt familiär gehäuft auf. Eine x-chromosomal dominante wie eine autosomal rezessive Vererbung kommen in Frage (11, 15, 128).

Unter den Merkmalen der rasch fortschreitenden Parodontitis, wie Page und Schroeder sie zusammenstellten, werden unter anderem Funktionsdefekte der neutrophilen Granulozyten und der Makrophagen angeführt (108, 109). In den Fallstudien, die Page et al. 1983 mit dem Ziel veröffentlichten, die RPP als eigene Entität zu etablieren, wird das klinische Bild dieser Form der Parodontitis geschildert und durch Laborparameter ergänzt. Gefunden wurde eine anormale Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten. Diese reagierten entweder verstärkt oder reduziert. Wie bei der juvenilen Parodontitis können auch die Makrophagen betroffen sein, wobei kein Patient Defekte in beiden Zelltypen hatte. Angesichts der sehr unterschiedlichen Abweichung vom normalen Verhalten der untersuchten Zelltypen und der sehr geringen Zahl der untersuchten Probanden stellt sich hier die Frage der Aussagefähigkeit dieser Angaben. Die allgemeinen Anamnesen der Patienten ergaben keine Auffälligkeiten, wie sie bei generalisierten Dysfunktionen des Phagozytensystems zu erwarten wären. Die Untersuchung auf Antikörper gegen *Porphyromonas gingivalis* und *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ergab erwartungsgemäß bei allen Patienten hohe Titer gegen eine von beiden oder beide Spezies (108). Eine Arbeit aus unserer Klinik konnte keine signifikanten Unterschiede in der Freisetzung von Entzündungsmediatoren durch Gewebsmakrophagen bei RPP-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe feststellen (79).

## 1.2 Speichel

Die Funktion der Speicheldrüsen des Menschen besteht in der Bildung eines kompliziert zusammengesetzten Sekretes, das eine Reihe wesentlicher Aufgaben für den Gesamtorganismus erfüllt. Der Speichel besteht zu mehr als 95% aus Wasser, sein spezifisches Gewicht ist 1050. Seine Funktionen bestehen in der Pufferung des pH-Wertes der Mundhöhle, Remineralisierung der Zähne, Emulgation und enzymatischer Spaltung von Nahrung, Befeuchtung und Erhalt der Elastizität der Schleimhaut sowie Schutz vor pathogenen Mikroorganismen. Diese Aufgaben werden von einer Vielzahl in den Speichel sezernierter Stoffe erfüllt.

### 1.2.1 Speichelproteine

Es können heute etwa 25 bis 35 verschiedene Proteine in stimuliertem Speichel gefunden werden (150 bis 264mg Protein/ 100ml Speichel), von denen der größte Bestandteil Prolin-reiche Proteine (PRP's) und Amylase sind (4). Amylase besteht aus zwei Isoenzymen, einer glykosylierten Form und einer Form, die keine Kohlenhydrate enthält (94). Amylase ist durch die Spaltung der  $\alpha$ -(1-4)-glykosidischen Bindung von Stärke, Glykogen und anderen Glukosepolymeren an der Nahrungsverdauung beteiligt. Prolinreiche Proteine und das kleine Protein Statherin verhindert eine Präzipitation von Kalzium in den Ausführungsgängen der Speicheldrüsen. Sie sorgen damit für eine Übersättigung des Speichels mit Kalzium, der dem Zahnschmelz zur Remineralisation zur Verfügung steht (48). Lysozym (syn. Muramidase) ist ein bakterizid wirkendes körpereigenes Abwehrprotein, das zur Lyse grampositiver Bakterien führt, indem es das in deren Zellwand vorkommende Murein spaltet. Gramnegative Bakterien, denen dieser Zellwandbestandteil fehlt, werden von Lysozym nicht angegriffen (57).

### 1.2.2 Glykoproteine des Speichels

Die im Speichel vorkommenden Glykoproteine lassen sich in folgende Gruppen einteilen:

Solche, die jeweils eine selbstständige Glykoproteingruppe darstellen:

- sekretorisches IgA
- Laktoferrin
- Kallikrein
- Fibronektin

Solche, die zur Gruppe der serösen Glykoproteine gehören mit geringerem Molekulargewicht, N-glykosidischer Bindung und einem hohen Anteil an Mannose:

- Prolinreiche Glykoproteine
- $\alpha$ -Amylasen
- Peroxidase
- Anhydrase

Schließlich die Gruppe der mukösen Glykoproteinen mit hohem Molekulargewicht, überwiegend O-glykosidischer Bindung und geringem Anteil an Mannose, die

- Muzine.

Die Glykoproteine haben verschiedene sich teilweise überlappende Funktionen, von denen hier die antibakteriellen Funktionen genannt werden sollen.

Lakttoferrin wirkt bakterio­statisch, indem es das für viele Bakterien essen­tielle Eisen mit hoher Affinität bindet (18). Allerdings findet dieser Effekt seine Grenze in der Absättigung des Laktoferrins mit Eisenatomen (45).

Unter Mitwirkung des im Speichel vorkommenden Enzyms Laktoperoxidase wird Thiocyanat mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  zu Hypothiocyanat umgesetzt (52). Dieses Endprodukt des antibakteriellen Systems (145) behindert den Metabolismus der Mikro-

organismen, indem es Enzyme der Glykolyse und des Kohlenhydrattransportes hemmt. Für viele Mikroorganismen, unter anderem jene, aus deren Stoffwechsel das zur Reaktion notwendige  $H_2O_2$  stammt, ist Hypothiocyanat direkt toxisch (146).

Die statistisch signifikanten Korrelationen zwischen der Konzentration der genannten Abwehrstoffe im Speichel und klinisch meßbaren Faktoren wie Gingivitis und Plaquemenge lassen allerdings nur auf einen Einfluß dieser Abwehrfunktionen von weniger als 10% an der Variation der klinischen Erscheinungen schließen (54).

Das sekretorische Immunglobulin A (sIgA) gehört zum spezifischen Immunsystem. Es besteht aus 2 IgA Molekülen, deren Fc-Enden durch eine J-Kette (15-16 kDa) über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Das sIgA hat durch seine dimere Form eine größere Stabilität gegenüber bakteriellen Proteasen als die monomeren Formen der Immunglobuline. Die antibakterielle Wirkung beruht vor allem auf der Bindung an spezifische Antigene und deren Agglutination (17).

Die hochmolekularen Muzine und prolinreichen Glykoproteine haben mit ihrem Kohlenhydratanteil großen Einfluß auf die Adhärenz von Mikroorganismen an orale Strukturen. Glykane stellen spezifische Rezeptoren für bakterielle Adhärenzmoleküle, sogenannte Lektine, dar. Nach Bindung an Hydroxylapatit wird eine Adhäsion von Bakterien an die Zähne gefördert, während sie im Speichel gelöst die Lektine der Mikroorganismen besetzen. Dadurch wird eine Adhäsion der Keime an die Strukturen der Mundhöhle verhindert (144).

Die Muzine sind im Gesamtspeichel in zwei Hauptklassen vorhanden (MG 1 und MG 2), die hauptsächlich im submandibulären und sublingualen Speichel und den Sekreten der kleinen Speicheldrüsen gefunden werden. Die prolinreichen Glykoproteine werden überwiegend von der Parotis sezerniert. Alle bestehen aus einem Polypeptidgerüst mit Oligosaccharidseitenketten. Das Molekulargewicht und die Proportion von Peptid zu Kohlenhydratanteil variieren zwischen den Gruppen (30). Einige Charakteristika sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1: Aus Edgar 1992 (30)

	MG1	MG2	PRP
Relatives Molekulargewicht (kDa)	<10 <sup>3</sup>	200 - 500	40
Polypeptidanteil (%)	15	30	60
Kohlenhydratanteil (%)	75	68	30
Untereinheiten	Ja	Nein	Nein
Gebundenes Sulfat	Ja	?	Nein
Gebundenes Phosphat	Nein	?	Ja
Gebundene Sialinsäure	Ja	Ja	?
Blutgruppenaktivität	Ja	Ja	Nein

Muzine sind von Becherzellen oder submukösen Drüsenzellen gebildete Glykoproteine, deren Oligosaccharidseitenketten durch O-Glykan-Bindung an die Aminosäuren Serin oder Threonin an den Proteinanteil gebunden sind. Humane Muzine enthalten 70 - 85% Kohlenhydrate, 50 - 80% ihres Proteinanteils besteht aus nur fünf Aminosäuren in der relativen Mengenverteilung Threonin > Serin, Prolin > Glycin, Alanin. Damit unterscheiden sie sich sowohl im Kohlenhydratanteil als auch im Verhältnis der Aminosäuren von den Muzinen anderer Spezies (124). Die Glykokonjugate der mukösen Sekrete der Gl. sublingualis und der Gl. submandibularis sowie der meisten kleinen Speicheldrüsen liefern hohe Anteile an O-Glykanen, die charakteristischerweise keine Mannose enthalten und deren relativer Anteil an N-Acetylgalaktosamin (GalNAc) und Sialinsäure erheblich größer ist als bei den serösen Glykoproteinen (149). In den serösen Sekreten der Parotis überwiegen Glykokonjugate mit Kohlenhydratanteilen vom Typ der N-Glykane mit typischerweise hoher Konzentration von Mannose, endständigen Fucose- und Sialinsäureresten und wenig oder keinem N-Acetylgalaktosamin. Der Syntheseweg der O-Glykane nach Kopplung eines GalNAc an Ser oder Thr ist sehr variabel. Immer scheinen jedoch sehr hochspezifische Enzyme an der Synthese der Oligosaccharide beteiligt zu sein.

Im Gegensatz dazu ist der enzymatische Syntheseweg der N-Glykane von Hirschberg und Snider als ein komplexes Zusammenspiel von endoplasmatischem Retikulum (ER) und Golgiapparat eingehend beschrieben worden (51). Die Proteinkette wird an den Ribosomen des ER in das Lumen des ER hinein synthetisiert, wo  $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$  Oligosaccharide auf einen Asparaginsäurerest via Dolicholphosphat übertragen werden. Im Golgiapparat wird der Transport der Glycanreste in das Lumen von spezifischen Carriern bewerkstelligt (156, 157). Nach en-bloc-Transfer des neugebildeten Glykoproteins im Golgiapparat (115) werden die N-Glykane vom High-Mannose-Typ (Mannose-reichen Typ) über einen Hybrid-Typ in einen Komplex-Typ umgewandelt. Die endständigen Glukosereste sowie nacheinander sechs der neun Mannosereste werden enzymatisch abgespalten, wobei intermediär oligomannosylhaltige Glykane (Hybrid-Typ) entstehen. An der verbleibenden Core-Region mit endständigen Mannoseresten werden durch die Glykosyltransferasen des Golgiapparates die zusammengesetzten Oligosaccharidstrukturen der Glykoproteine vom komplexen Typ synthetisiert. Die Untersuchung endständiger Kohlehydrate im Parotisgewebe verschiedener Säugetierspezies unter Verwendung spezifischer Lektine ergab Unterschiede sowohl zwischen den Arten als auch innerhalb einer Art, sowie auch unter den verschiedenen Gewebearealen innerhalb einer Drüse (1).

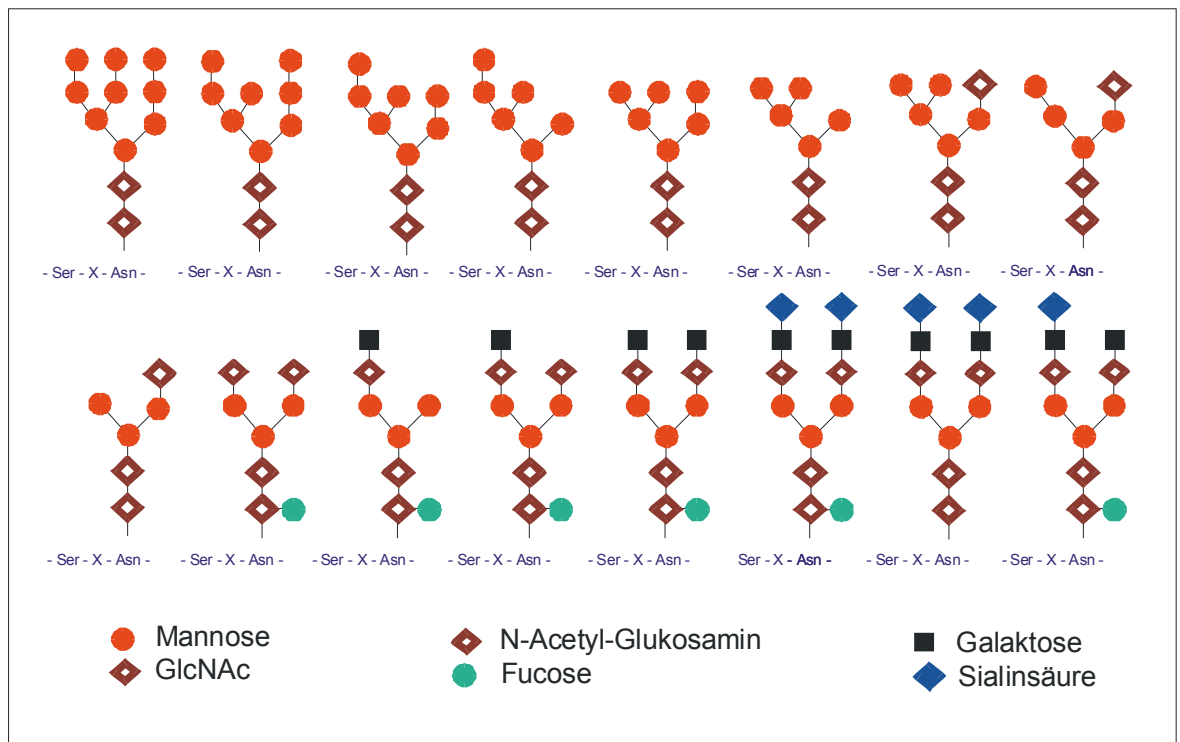


Abbildung 1: Substitution von Mannose im Golgyapparat und Synthese komplexer Glykanstrukturen

### 1.2.3 Innervation der Speicheldrüsen

Für die Speicheldrüsen des Menschen ist gesichert, daß sowohl parasympathische als auch sympathische Nervenfasern an der Innervation beteiligt sind. Das präganglionäre Neuron der parasympathischen Fasern für die Gl. parotis (Ohrspeicheldrüse) liegt im Nucleus salivatorius inferior in der Rautengrube, dasjenige für die Gl. submandibularis (Unterkieferspeicheldrüse) und die Gl. sublingualis (Unterzungenspeicheldrüse) sowie für die kleinen Speicheldrüsen der Schleimhaut im Nucleus salivatorius superior. Die sekretorischen Fasern für die Gl. parotis verlassen mit dem N. glossopharyngeus das Rautenhirn und gelangen vom Ganglion petrosum als N. tympanicus über die Paukenhöhle in das Ganglion oticum. Von dort besteht eine Verbindung über den N. auriculo-temporalis zur Gl. parotis.

Die Fasern für die anderen Drüsen aus dem Nucleus salivatorius superior ziehen



weitgehend über die Chorda tympani an ihren jeweiligen Bestimmungsort. Namentlich für die Gl. sublingualis sind auch parasympathische Fasern aus dem N. hypoglossus gesichert. Diese aufgeführte nervale Versorgung ist nur grob schematisch. Variable zusätzliche Versorgungen über die Nn. facialis, glosso-pharygeus, vagus und hypoglossus haben eine individuell verschiedene Bedeutung für die parasympathische Versorgung (98).

Die sympathische Innervation nimmt ihren Ursprung vom Nucleus intermedius lateralis des Rückenmarks im Segment C 8 bis Th 1. Die Umschaltung auf das zweite Neuron erfolgt im Ganglion cervikale superius. Von hier ziehen sympathische Nervenfasern entlang der großen Halsgefäße zu den entsprechenden Kopfspeicheldrüsen.

Speichelfluß und Zusammensetzung stehen in Beziehung zu der Art der autonomen Innervation und Stimulation. Bei parasympathischer Stimulation ist das Volumen des Speichels pro Zeiteinheit sehr hoch, bei sympathischer Stimulation ist der zu erzielende maximale Speichelfluß im Vergleich zum Drüsengewebe relativ klein. Adrenerge Stimulation führt im Gegensatz zu cholinerg Stimulation zu einer erhöhten Ausscheidung von Glykoproteinen, Amylase und Saccharidmolekülen (98).

Unterschiede bestehen zwischen den Speicheldrüsen hinsichtlich der verschiedenen Protein- bzw. Glykoproteinfraktionen. Diese basieren auf den Anteilen von serösen bzw. mukösen Zellen im Drüsenparenchym. So wird Amylase in den serösen Acini produziert, und ihre Konzentration ist daher im Sekret der Gl. parotis etwa fünf Mal höher als in der Gl. submandibularis. Untersuchungen mit der Polyacrylamidgel-Elektrophorese ergaben mindestens vier verschiedene Isoenzyme in der Gl. Parotis, von denen nicht alle in der Gl. Submandibularis vorkommen (80).

Die mukösen Zellen der mandibulären Drüsen produzieren Glykoproteine, in deren Kohlenhydratanteil sich Blutgruppenstrukturen finden, während diese im Parotisspeichel praktisch nicht vorkommen. Eine Steigerung der Proteinsekretion unter  $\beta$ -adrenerger Stimulation durch Isoproterenol findet in der Gl. submandibularis ebenso statt wie in der Parotis, wobei bei letzterer der relative

Effekt zur Flußrate jedoch sehr viel größer ist. Ebenso ist der Gehalt an bestimmten anorganischen Anteilen unterschiedlich. Unter  $\beta$ -adrenerger Reizung fallen die Sekretion von Kalium, Kalzium und Bikarbonat wesentlich höher aus als unter parasympathischer Stimulation. Mit einer Steigerung der Flußrate steigt der Gehalt an Natrium, Chlorid und Bikarbonat, Kalium fällt hingegen auf einen relativ konstanten Spiegel ab. Der Gehalt an Bikarbonat kann dabei beim Menschen deutlich über die Plasmakonzentration ansteigen (78). Die physiologischen Grundlagen der Speichelsekretion hat Yusuke Imai ausführlich zusammengestellt (53).

#### 1.2.4 Steuerung der Glykoproteinsynthese

Es wurden vielfältige Versuche unternommen, um die Regulationsmechanismen der Glykoproteinsynthese und -sekretion aufzudecken. Die Gruppe um Kousvelari und Baum konnte in Studien an intakten Azinuszellen von Ratten zeigen, daß die erhöhte Aufnahme von  $^{14}\text{C}$ -markierter Mannose unter der Stimulation mit dem  $\beta$ -adrenergen Agonisten Isoproterenol eine gesteigerte N-Glykosylierung widerspiegelt (76). In einem früheren Experiment unseres Labors an lebenden Ratten stellte sich heraus, daß nach der Injektion von verschiedenen Sekretionsstimulantien allein unter Isoproterenolwirkung eine signifikant höhere Konzentration terminaler Mannosylreste im Speichel nachgewiesen werden konnte (63). Die gesteigerte Glykoproteinproduktion unter der Wirkung von Isoproterenol beruht vermutlich auf der durch cAMP vermittelten Erhöhung der Synthese von Dolichol-gebundenen Oligosacchariden (105). An isolierten mikrosomalen Membranen konnte demonstriert werden, daß der Aufbau der primären Oligosaccharidseitenkette im ER via Dolicholphosphat-gebundener Kohlenhydrate offensichtlich einer Neurotransmitter-abhängigen Steuerung von Schlüsselglykosyltransferasen unterliegt, die die Kohlenhydratreste von ihren entsprechenden Nukleotiden auf Dolicholphosphat übertragen (7). Gleichzeitig scheint die verstärkte Bereitstellung von Dolichol-Phosphat-Intermediaten mit einer gesteigerten Synthese des Polypeptidanteils der Glykoproteine einherzugehen, wie die Untersuchung mit ( $^{14}\text{C}$ )Leucin-markierten Zellen ergab (105). Der durch

Isoproterenol gesteigerte Einbau von (1-<sup>14</sup>C)-Glukosamin ließ sich nach Unterbrechung der Proteinsynthese unter der Wirkung von Cycloheximid nicht mehr auslösen (34). Der Vergleich der Ergebnisse aus den Versuchen mit Rattenzellen mit dem Verhalten von Zellen aus humanen Parotisbiopsaten erbrachte nur geringe Unterschiede, die darauf zurückgeführt werden, daß die Rattenzellen aus Inzuchtpopulationen stammten, während die humanen Zellen von verschiedenen nicht verwandten Individuen mit unterschiedlichen klinischen Diagnosen entnommen wurden (75).

Nach Langzeitgabe von Isoproterenol verringert sich die Gesamtproteinkonzentration sowie die Amylaseaktivität in Speichelproben, die nach Absetzen der Medikation entnommen werden. Dies ist vermutlich auf eine reaktive Reduzierung der  $\beta$ -adrenergen Rezeptoren zurückzuführen (126). Die Verabreichung des  $\beta$ -Adrenorezeptorblockers Propranolol über einen Monat führt zu einer Reduzierung der Gesamtproteinkonzentration im Speichel. Die Flußrate unter Stimulation mit Pilocarpin wird davon nicht beeinflusst. Gleichzeitig entsteht ein signifikant höheres Kariesrisiko, was auf einen verminderten Schutz der Zähne durch organische Speichelbestandteile zurückgeführt wird (104).

### **1.3 Adhäsion versus Antiadhäsion**

Die Adhäsion von Bakterien an orale Strukturen findet in einem Milieu aus verschiedenen förderlichen und hindernden Faktoren statt. Mucosazellen und das Pellikel auf der Zahnoberfläche wie auch Bakterien sind negativ geladen und stoßen sich ab. Andere elektrodynamische oder van der Waal's Kräfte sind ihnen entgegen gerichtet (19). Zwischen den beteiligten Oberflächen stellt sich ein bestimmter Abstand ein, der von Kationen beeinflusst wird, die die negativen Ladungen umlagern. Ein saurer pH-Wert oder eine höhere Konzentration anderer Kationen wird den Abstand verringern, so daß Adhäsionsmoleküle in direkten Kontakt mit ihren Rezeptoren treten können (21). Es hat sich herausgestellt, daß Adhäsine auf Bakterien häufig als Bestandteile der Pili oder Fimbrien genannten Oberflächenfortsätze existieren, die aus der Glykokalix der Bakterien herausragen

und den primär bestehenden Abstand zwischen den Zellen überbrücken können. Wohl am besten charakterisiert sind die Typ-I-Fimbrien von *E. Coli*, die spezifisch an mannosehaltige Glykoproteine binden (133). Auf einigen *E. Coli*-Stämmen hat man sogenannte P-Fimbrien gefunden, die an ein für die Blutgruppe P kennzeichnendes Glykolipid binden. Es konnte gezeigt werden, daß Mädchen mit der Blutgruppe P ein signifikant höheres Risiko tragen, an von diesen *E. Coli*-Stämmen ausgelöster Pyelonephritis zu erkranken (92).

Des weiteren wurden M-Fimbrien auf der Oberfläche von bestimmten *E. Coli*-Stämmen entdeckt, die spezifisch für die Blutgruppe-M-Determinante im Glykophorin A sind, sowie S-Fimbrien, die Sialyl- $\alpha$ -(2 - 3) Galaktosyl-Strukturen auf menschlichen Erythrozyten erkennen, (101).

Eine Reihe von Arbeiten neueren Datums setzt sich mit der Adhäsion von vermutlich parodontalpathogenen Keimen auseinander. Anhand von Inhibitionstests werden die Bindungsspezifitäten der Bakterien charakterisiert, wobei immer wieder der lektinartige Bindungsmodus gefunden wird. Deutlich wird auch, daß verschiedene Stämme derselben Spezies unterschiedliche Affinitäten haben (106, 158). Neben der Inhibition von Hämagglutination sowie Koaggregation und Adhäsion von Bakterien durch definierte Einzelzucker ist die diesbezügliche Wirkung von Speichel oder Speichelbestandteilen untersucht worden. Das ist für oralpathogene Keime von besonderer Bedeutung, denn der Speichel stellt in der Mundhöhle das Medium dar, in dem Adhäsion stattfindet und ihr förderlich sein oder sie behindern kann. Ebisu et al. extrahierten aus Sublingualis-/Submandibularisspeichel ein EcAF (*Eikenella corrodens* aggregating factor) genanntes 140 kDa Glykoprotein, dessen Wirkung auf *E. corrodens* sich durch GalNAc spezifisch hemmen läßt, das aber auch andere Bakterien GalNAc-unabhängig zu aggregieren in der Lage ist (29). Die Adhäsion von *Eikenella corrodens* an buccale epitheliale Zellen wird durch Behandlung der Zellen mit Neuraminidase gefördert, wohingegen sie durch Zugabe von D-Galaktose und GalNAc haltiger Kohlenhydrate verhindert wird (162). Für einige der oral vorkommenden Stämme der *Bacteroides*-Gruppe wurde nachgewiesen, daß Speichel in der Lage ist, die

Adhäsion dieser Bakterien an epitheliale Zellen zu unterbinden (106), nicht jedoch deren Bindung an Actinomyces und andere grampositive Plaquebakterien (135). Jüngste Ergebnisse zeigen, daß der lektinartige Bindungsmodus auch für das Infektionsrisiko durch Viren eine Rolle spielt. Der Transport infektiöser HIV-1 Viren durch eine auf Filterpapier gezüchteten Schicht von humanen Epithelzellen konnte durch Inkubation mit hoch mannosehaltigen Glykanen sinifikant verringert werden. Verantwortlich für die Bindung des Hüllenglykoproteins 120 des HIV-1 Virus an humane epitheliale Zellen ist vermutlich dessen lektinartige Bindung an Oligomannosyl-Strukturen auf der Oberfläche der Epithelzellen (64).

### 1.3.1 Lektine

Lektine sind in der Natur weit verbreitete Proteine oder Glykoproteine. Man findet sie in Mikroorganismen, Pflanzen, wirbellosen Tieren und Wirbeltieren einschließlich der Säuger (41). Der Terminus "Lektin" (lat: legere = auslesen) wurde erstmals von Boyd und Shapleigh (16) verwendet, um die Eigenschaft dieser Substanzen, Kohlenhydratstrukturen selektiv zu erkennen, zu dokumentieren (153).

Lektine bewirken durch Bindung an spezifische Glykanstrukturen die Agglutination von Zellen oder die Präzipitation von Glykokonjugaten (42). Aufgrund dieser Eigenschaften wurden Lektine zur Charakterisierung von Erythrozyten (60) und Lymphozyten (134) sowie auch zur Erkennung transformierter und Unterscheidung von nicht transformierten Zellen verwendet (121). Des weiteren fanden Lektine Anwendung in der mikrobiologischen Diagnostik (26).

Bereits 1888 stellte Hermann Stillmark fest, daß Samenextrakte der Pflanze Ricinus Communis die Agglutination von Erythrozyten bewirken (141). Er nannte den von ihm gefundenen Stoff Ricin und vermutete zutreffend, daß es sich dabei um ein Protein handelt. Er glaubte, damit den Grund für die Giftigkeit der Pflanze gefunden zu haben. Die Reaktion des Samenextraktes mit Erythrozyten ist jedoch nicht für dessen Giftigkeit verantwortlich (35), das Agglutinin der Pflanze ist nicht mit dem Toxin identisch.

In der Folgezeit nannte man Erythrozyten agglutinierende Substanzen Häm-agglutinine, Agglutinine oder, da sie aus Pflanzen gewonnen wurden, Phyto-agglutinine. Prokop et al. prägten nach der Entdeckung eines Lektins in der Eiweißdrüse von Schnecken den Begriff „Protektin“ (119), da sie hinter dem Bindungsvermögen des Proteins eine Schutzfunktion vermuteten. Aufgrund des inzwischen bekannten Auftretens dieser Proteine auch bei allen anderen Arten von Lebewesen ist der Begriff des Lektins erheblich umfassender geworden (41). Die Definition von Goldstein et al., nach der Lektine Proteine oder Glykoproteine nicht immunen Ursprungs sind, die Zellen agglutinieren und/oder Glykokonjugate präzipitieren und mindestens zwei Bindungsstellen besitzen, wurde 1981 vom Nomenclature Committee of International Union of Biochemistry übernommen (103). Die Spezifität eines Lektins wird gewöhnlich definiert durch Bezeichnung der Mono- oder Oligosaccharide, die lektininduzierte Agglutinations-, Präzipitations- und Aggregationsreaktionen hemmen (42). Saccharide, die unabhängig von ihrer Herkunft Lektine mit hoher Affinität binden, werden als Lektinrezeptoren bezeichnet.

Die Oligosaccharid-Lektin-Komplementarität konnte durch Vergleiche der Minimalkonzentration verschiedener Zucker, die zur Hemmung einer Agglutinationsreaktion oder der Hemmung der Präzipitation zwischen dem Lektin und einem reaktiven Molekül erforderlich waren, festgestellt werden. Die Bindung zwischen Lektin und Saccharid beruht vermutlich auf Wasserstoffbindungen zwischen dem anomeren Sauerstoff und Hydroxylgruppen der Zucker einerseits sowie Carboxylgruppen von Aminosäuren des Lektins andererseits. Hemmversuche mit Mono- und Oligosacchariden waren in der Regel übertragbar auf die Wechselwirkung von Lektinen mit komplexen Sacchariden, Glykoproteinen und Glykolipiden. Die höhere Affinitätskonstante, die für die Bindung von Agglutininen an komplexe Strukturen nachgewiesen werden konnte, wurde auf multivalente Interaktionen zwischen Lektin und komplexen Sacchariden zurückgeführt (44). Eine Zusammenstellung der bekannten Lektine und ihrer Bindungsspezifitäten haben Wu et. al. vorgenommen (161).

#### 1.4 Arbeitshypothese

Die bis hierhin dargestellten Grundlagen waren Veranlassung, eine Versuchsanordnung zu entwerfen, mit der mögliche Unterschiede in der Speichelglykosylierung von Patienten mit schwerer Parodontitis im Vergleich zu einer Gruppe parodontal gesunder Kontrollen untersucht werden konnten.

Da die Speichelbestandteile offensichtlich einen erheblichen Einfluß auf die Überlebenschancen von aufgenommenen Mikroorganismen in der Mundhöhle haben, könnten Unterschiede im Glykosylierungsmuster Hinweise auf eine Prädisposition für Erkrankungen der Mundhöhle geben.

Die antiadhäsive Wirkung des Speichels sollte dabei mit Hilfe der kompetitiven Bindung von Speichelglykokonjugaten an Pflanzenlektine gemessen werden, um die Blockierung bakterieller Adhäsine zu simulieren. Der Speichel sollte so weit wie möglich unter Anwendung nichtinvasiver Methoden nach den verschiedenen Speicheldrüsen getrennt gewonnen und dadurch vor möglichen postsekretorischen Modifikationen durch das Mundhöhlenmilieu geschützt werden.

Da von vielen Parodontologen akute Exazerbationen parodontaler Läsionen bei Patienten unter Streß beobachtet werden, war für uns die Veränderung des Glykosylierungsmusters der Probanden bei physiologischer adrenerger Stimulation von Interesse. Untersuchungen von Glykokonjugaten im Speichel von Tieren unter körperlicher Belastung mit dem  $\beta$ -Sympathomimetikum Isoproterenol zeigten deutliche Veränderungen gegenüber dem unstimulierten Zustand. Diese Untersuchung sollte zeigen, ob das auch beim Menschen und unter physiologischer, also endogener adrenerger Stimulation, der Fall ist.

## **2      Material und Methode**

### **2.1      Auswahl der Probanden**

Die Probanden stammten aus dem Patientenaufkommen der damaligen Abteilung für Parodontologie der Zahnklinik Nord der Freien Universität Berlin, jetzt Abt. für Parodontologie und Synoptische Zahnmedizin des Zentrums für Zahnmedizin des Universitätsklinikums Charité der Medizinischen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin (Leiter Prof. Dr. Dr. J.P. Bernimoulin). Alle in die Studie aufgenommenen Testpersonen hatten sich in der Abteilung mit akuten Problemen auf Grund ihrer parodontalen Erkrankung vorgestellt. Es handelte sich entweder um Zahnlockerungen 3. Grades mit drohendem Zahnverlust oder um schmerzhaftes Exazerbationen einer oder mehrerer parodontaler Läsionen. Diese waren mit starker Blutung auf Sondierung und/oder Pusentleerung bis zu parodontalen Abszessen begleitet. Nach der initialen Schmerztherapie wurden die Patienten in die erste Phase der Parodontaltherapie geführt, die aus mindestens zweimaliger supragingivaler Plaque- und Zahnsteinentfernung sowie Mundhygieneinstruktion und deren Kontrolle besteht. Danach wurde ein Parodontalstatus und ein Röntgenstatus erstellt. Anhand der nun vorhandenen Unterlagen wurden elf Patienten ausgewählt, bei denen nach enger Auslegung der Kriterien der Abteilung in Anlehnung an die Definition von Page et al (108) eine rasch fortschreitende Peridontitis vorlag. Die Auswahlkriterien waren der Umfang des Verlustes an Zahnhalteapparat im Verhältnis zum Alter des Patienten, das Verteilungsmuster der Destruktionen und das Erscheinungsbild der aktiven Läsionen. Zur Beurteilung der Destruktionen im Parodont wurden an jedem Zahn vier Meßpunkte (mesial, distal, vestibulär, oral) in die Wertung genommen. Die Weisheitszähne wurden nicht berücksichtigt.



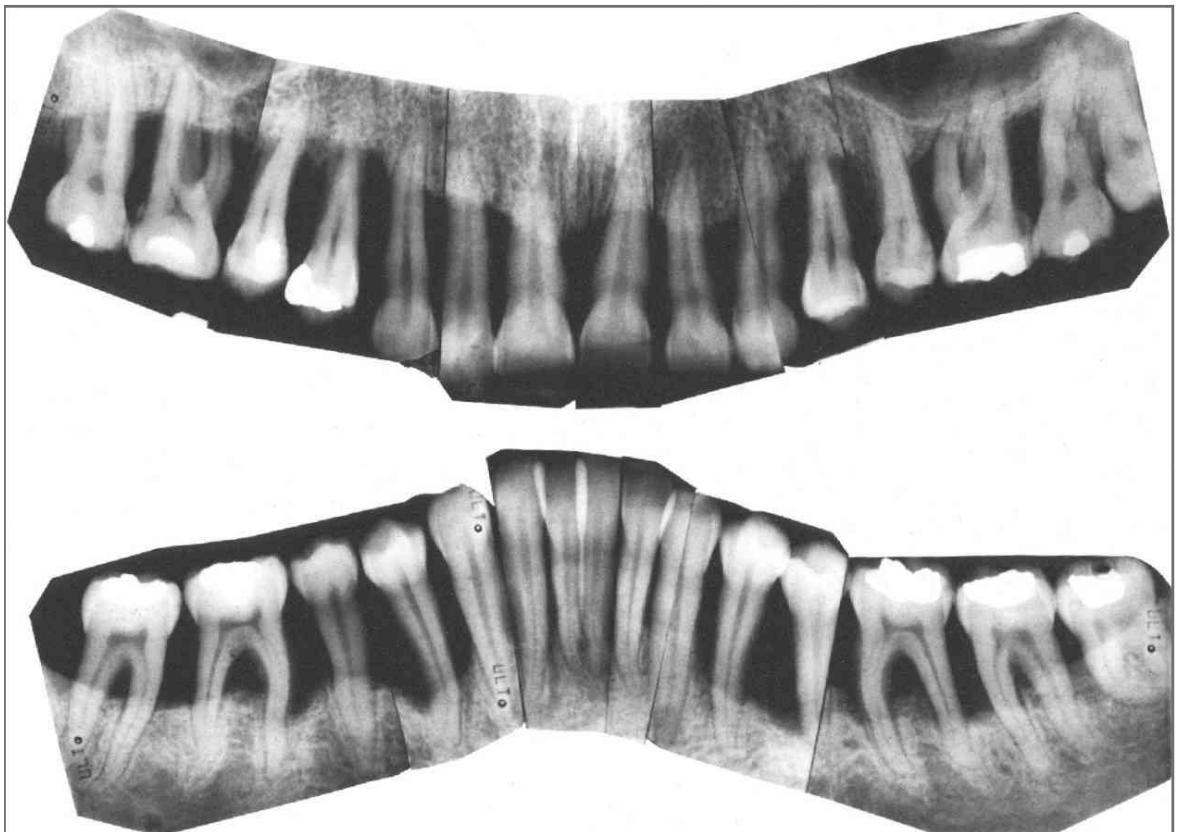


Abbildung 2: Röntgenstatus einer 26-jährigen Patientin mit rasch fortschreitender Parodontitis

#### 2.1.1 Minimalwerte

Bei einem 29-jährigen Patienten waren nur 17,6% der Meßpunkte mit 5 und mehr Millimetern Taschentiefe als eindeutig pathologisch eingestuft worden, die sich auf 10 von 27 Zähnen verteilten. Darunter fanden sich aber 4 Meßpunkte mit 9 mm und mehr verteilt auf zwei verschiedene Quadranten.

Im Falle einer 38-jährigen Patientin fand sich nur ein Meßpunkt mit 9 mm Taschentiefe, es wurden aber mehr als die Hälfte der Meßpunkte als pathologisch eingestuft und es waren alle 28 Zähne befallen. Darunter befanden sich 11 Meßpunkte mit 7 bis 8 mm Tiefe.

Diese beiden Beispiele zeigen, wie unterschiedlich die Verteilung der Destruktionen sein können. Im ersten Fall sind mehrere tiefe Knochenkrater in verschie-

denen Quadranten anzutreffen, die sich an kariesfreien ungefüllten Zähnen ohne jede prothetische Versorgung befinden. Die Defekte sind keinesfalls auf iatrogene Noxen zurückzuführen, was schon von sich aus den Verdacht auf eine rasch fortschreitende Form der Parodontitis lenkt. Solche Fälle findet man zwar auch in höherem Lebensalter, sie fallen aber dann laut Definition nicht mehr in die Gruppe der typischen RPP-Patienten. Im zweiten Fall sind die Destruktionen gleichmäßiger verteilt, was dem Bild einer fortgeschrittenen Erwachsenenparodontitis entspricht. Das Lebensalter der Patientin zusammen mit dem klinischen Bild der aktiven Läsionen gibt aber hier den Ausschlag für die Diagnose einer RPP.

#### 2.1.2 Maximalwerte

Eine 36 Jahre alte Probandin hatte 63% der Meßpunkte mit mindestens 5mm, davon 18 Meßpunkte mit 7 bis 8 mm sowie 10 Meßpunkte mit mindestens 9 mm verteilt auf alle vier Quadranten. Alle 25 Zähne waren befallen. Bei einem 37 jährigen Patienten wurden 45,2 % der 104 Meßpunkte als pathologisch eingestuft, 17 davon waren 7 bis 8 mm tief. Insgesamt 13 Meßpunkte wurden mit 9 mm und mehr in 3 Quadranten gemessen. Von den 26 vorhandenen Zähnen waren nur 4 nicht befallen. Tabelle 2 gibt die bei den Probanden gemessenen Tiefen der Meßpunkte und ihr Verhältnis zur Gesamtzahl wieder.

Tabelle 2: Zahnfleischtaschentiefen der RPP-Patienten

Patient			vorhandene Zähne		Messpunkte	gemessene Taschentiefe in mm Anzahl der Meßpunkte						
Nr.	Alter	Sex	gesamt	befallen	gesamt	<4	4	5	6	7-8	9+	5+
P 4	26	w	28	15	112 in %	74 66	12 10,7	4 3,6	11 9,8	7 6,3	4 3,6	26 23,2
P 5	37	m	26	22	104 in %	45 43,3	12 11,5	10 9,6	7 6,7	17 16,3	13 12,5	47 45,2
P 6	31	m	27	25	108 in %	45 41,7	17 15,7	18 16,7	8 7,4	15 13,9	4 3,7	45 41,7
P 7	22	w	28	25	112 in %	46 41,1	10 8,9	19 17	11 9,8	18 16,1	8 7,1	56 50
P 9	38	w	28	28	112 in %	34 30,4	17 15,2	32 28,6	17 15,2	11 9,8	1 0,9	61 54,5
P 10	36	w	25	25	100 in %	22 22	15 15	21 21	14 14	18 18	10 10	63 63
P 11	26	m	28	26	112 in %	43 38,4	18 16,1	16 14,3	18 16,1	11 9,8	6 5,4	51 45,5
P 12	29	m	27	10	108 in %	75 69,4	14 13,0	5 4,6	8 7,4	2 1,9	4 3,7	19 17,6
P 13	30	m	26	23	104 in %	40 38,5	12 11,5	20 19,2	15 14,4	14 13,5	3 2,9	52 50
P 14	32	w	27	11	108 in %	72 66,7	12 11,1	2 1,9	8 7,4	7 6,5	7 6,5	24 22,2
P 20	29	w	22	15	88 in %	54 61,4	6 6,8	6 6,8	6 6,8	8 9,1	8 9,1	28 31,8

Entsprechend der Kriterien von Page waren immer nur einige der vorhandenen Läsionen in einem akuten Entzündungszustand. Die Auswertung der Röntgenbilder zeigte lokal tiefe Destruktionen ohne festes Verteilungsmuster, die häufig in Nachbarschaft zu nicht befallenen Meßpunkten lagen. Die Testpersonen waren zum Zeitpunkt der Untersuchung 22 bis 38 Jahre alt. Mit dem Einverständnis der Patienten für die Teilnahme an der Studie wurde eine eingehende allgemeine Anamnese erhoben, um andere bestehende Erkrankungen sowie die Behandlung mit Hormonpräparaten auszuschließen. Es gab unter den Probanden

und den Kontrollen keine Auffälligkeiten hinsichtlich besonderer Anfälligkeit für andere Erkrankungen. Weitere Voraussetzung war, daß keine frühere Parodontalbehandlung durchgeführt worden war und daß in den vergangenen 3 Monaten keine Behandlung mit Antibiotika stattgefunden hatte. Mit den elf Patienten, die alle Bedingungen erfüllten, wurde ein Termin für die Probenentnahme vereinbart. Das Verhältnis der an der Studie teilnehmenden Testpersonen von sieben weiblichen zu fünf männlichen Probanden war zufällig, ebenso das Vorkommen von jeweils einem gewohnheitsmäßigen Zigarettenraucher in den Geschlechtergruppen.

#### 2.1.3 Kontrollen

Zu jedem Probanden wurde eine Kontrollperson gleichen Geschlechts streng nach parodontaler Gesundheit ausgewählt, das heißt, es durften kein meßbarer Attachmentverlust und keine Entzündungszeichen vorhanden sein. Das Alter hatte weitgehend mit der Testperson übereinzustimmen, und Rauchen bzw. Nichtrauchen unter den Probanden wurden nur ebensolche Kontrollen gegenübergestellt. Eine Übersicht der Daten beider Gruppen zeigt Tabelle 3. Die Altersdifferenz der RPP-Patienten zu ihrer jeweiligen Kontrollperson beträgt im Median -6 Monate, der Bereich erstreckt sich von -26 Monaten bis zu +4 Monaten.

Tabelle 3: Zuordnung der Kontrollen zu den erkrankten Probanden

Test	Geb. Dat.	Kontrolle	Geb. Dat.	Geschlecht	Raucher
P 3	05.58	P 32	01.59	w	nein
P 4	01.67	P 24	04.66	w	nein
P 5	01.56	P 21	06.55	m	nein
P 6	12.61	P 17	06.61	m	nein
P 7	02.71	P 15	11.70	w	nein
P 8	08.53	P 33	06.54	w	nein
P 9	08.55	P 31	05.55	w	ja
P 10	12.56	P 34	12.56	w	nein
P 11	01.67	P 22	07.66	m	nein
P 12	03.64	P 18	01.62	m	nein
P 13	10.62	P 19	01.63	m	ja
P 14	01.61	P 16	05.61	w	nein
P 20	11.63	P 23	04.63	w	nein

## 2.2 Probenentnahme

Die Speichelentnahme wurde bei allen Testpersonen nach abgeschlossener initialer Parodontaltherapie, jedoch vor dem Beginn der zweiten Phase der Therapie, bestehend aus der subgingivalen Kürettage und Wurzelglättung, durchgeführt. Die letzte Nahrungsaufnahme lag mindestens 2 Stunden zurück. Die Probanden gaben auf Befragen an, keinen Hunger zu verspüren. Alle Proben wurden tagsüber zwischen 09.00 und 17.00 Uhr entnommen. Die gesamte Prozedur wurde für jeden Probanden in einer Sitzung durchgeführt, die ca. 1 bis 1 ½ Stunden dauerte. Für die Untersuchung stand ein vom allgemeinen Klinikbetrieb abgetrennter Raum mit Tageslicht zur Verfügung, in dem sich eine Dentaleinheit und sämtliche notwendigen Materialien befanden.

### 2.2.1 Apparatur

Zur Entnahme der Speichelproben wurde eine speziell für diesen Zweck entwickelte Apparatur eingesetzt. Sie besteht aus sechs Silikonsaugern, die über Silikonschläuche mit einer Unterdruckbox verbunden wurden. Innerhalb der Dichtfläche der Sauger ist ein Messingdrahtgitter eingearbeitet. Damit wird verhindert, daß die bewegliche Mucosa in den Hohlraum eingesaugt wird und den Schlauchanschluß verschließt. Die Sauger wurden hergestellt, indem die späteren Hohlräume aus weichem Dentalwachs auf einer Glasplatte aufgewachst und dann mit additionsvernetztem Silikon umspritzt wurden.

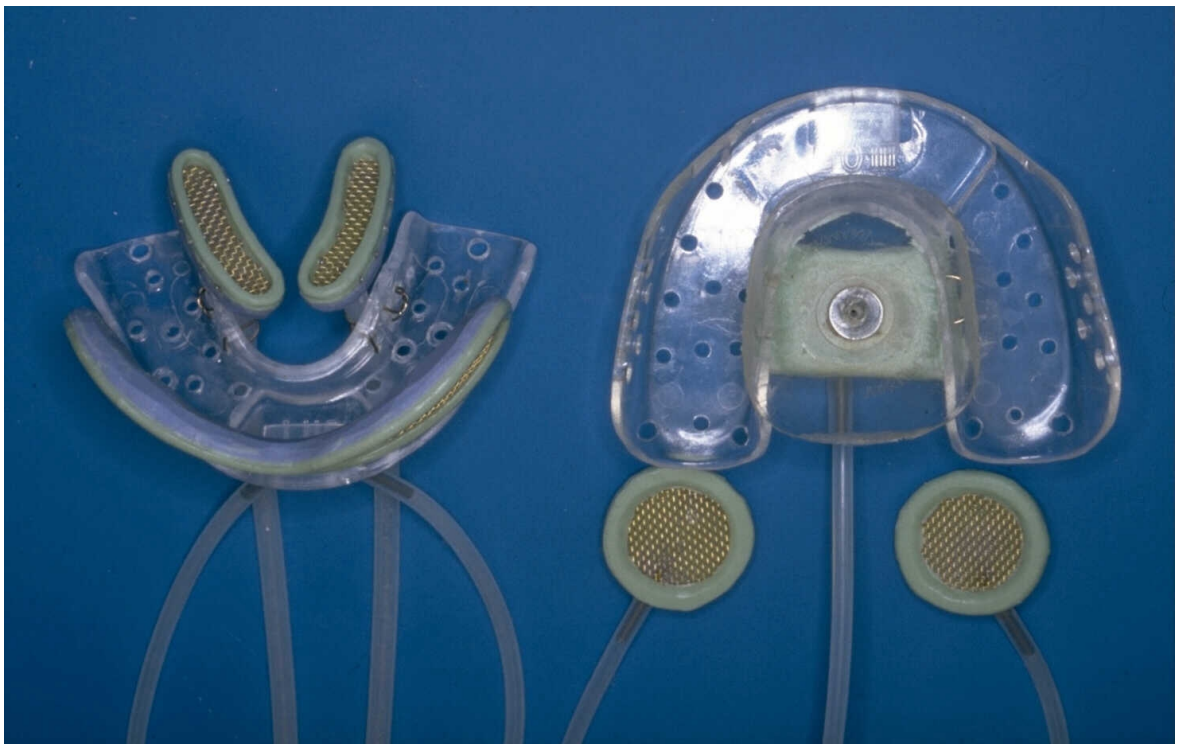


Abbildung 3: Intraorale Bestandteile der Speichelsaugeranlage

Die der Glasplatte anliegenden Ränder wurden dadurch zu absolut glatten Dichtflächen. Nach dem Ausbrühen des Waxes waren die in den Wackskern eingearbeitenden Messinggitter fest in die Wand der Saugers integriert.

Für den harten Gaumen wurde ein ca. 4 cm großer kommerziell erhältlicher Kunststoffsaugnapf oval zurechtgeschnitten. Die dünn auslaufenden Ränder

adaptieren gut an der Gaumenschleimhaut. Wegen der unbeweglichen Gaumenschleimhaut konnte hier auf das Messinggitter verzichtet werden. An einem modifizierten Kunststoffkonfektionslöffel befestigt, läßt er sich mit Hilfe von wenig hochviskösem Abformmaterial individualisieren und an den Oberkieferseitenzähnen befestigen.

Für den Unterkiefer sind drei Sauger an einem frontal ausgeschnittenen Kunststofflöffel befestigt, um vier Entnahmestellen zu erreichen. Zwei 2,5 x 0,8 cm große nierenförmige Sauger decken lingual jeweils die Caruncula und die Plica sublingualis ab. Es kann dadurch der Speichel der großen Unterkieferdrüsen nach links und rechts getrennt entnommen werden. Wegen der eng beieinander liegenden Ausführungsgänge kann jedoch nicht das Sekret der Gl. submandibularis von dem der Gl. sublinguales getrennt werden. Um eine störungsfreie Entnahme des sublingualen Sekretes trotz seiner hohen Viskosität zu erreichen, müssen hier Schläuche mit 2 mm Innendurchmesser eingesetzt werden. Durch die Befestigung der ableitenden Schläuche der Submandibularissauger an einem zurechtgeschnittenen Kunststofflöffel bleiben die Sauger in ihrer Position etwas flexibel und passen sich beim Einsetzen automatisch den anatomischen Platzverhältnissen an. Eine optische Kontrolle ist jederzeit möglich.

Ein weiterer Sauger von 6,5 x 1,5 cm ist ebenfalls an dem Kunststofflöffel für den Unterkiefer befestigt und wird im Vestibulum plaziert, um den Speichel der Gll. labiales aufzufangen. In ihm sind zwei Schlauchanschlüsse jeweils am äußersten linken und rechten Ende angebracht. Da es nicht vorgesehen war, bei den Gll. labiales nach links und rechts zu unterscheiden, befinden sich beide Anschlüsse in einem gemeinsamen Sauger. Der Löffel sorgt für eine Lagerung der Konstruktion auf der Zahnreihe des Unterkiefers, wobei sich eine Fixierung der Apparatur mit Abformmaterial an den Zähnen als überflüssig erwies.

Für die Parotis ist je ein frei zu platzierender runder Sauger mit 2 cm Durchmesser an einem Schlauch mit 1 mm Innendurchmesser vorhanden, der auf die Papilla parotidea gesetzt wird und durch den Unterdruck an seinem Platz gehalten wird. Die gesamte Konstruktion war bis auf einen Fall, in dem wegen einer starken Oberkieferkompression auf den Gaumensauger verzichtet werden mußte, bei

allen Probanden problemlos zu adaptieren und wurde gut toleriert. Es war damit möglich, den Speichel der großen Drüsen vollständig und gleichzeitig sowie nach Ausführungsgängen getrennt zu entnehmen.

In der Unterdruckbox sind in einem Ständer die Probengefäße untergebracht, in die das Durchtrittsröhrchen für die jeweilige Entnahmestelle hineinragt. Der Unterdruckanschluß wird mit dem Speichelsaugeranschluß der zahnärztlichen Behandlungseinheit verbunden, der einen Unterdruck von - 5 mmHg liefert.

Zur Stimulation des adrenergen Systems wurde körperliche Arbeit auf einem einfachen Fahrradergometer geleistet, zur Kontrolle der Pulsfrequenz diente ein elektronischer Pulszähler für Sportler.

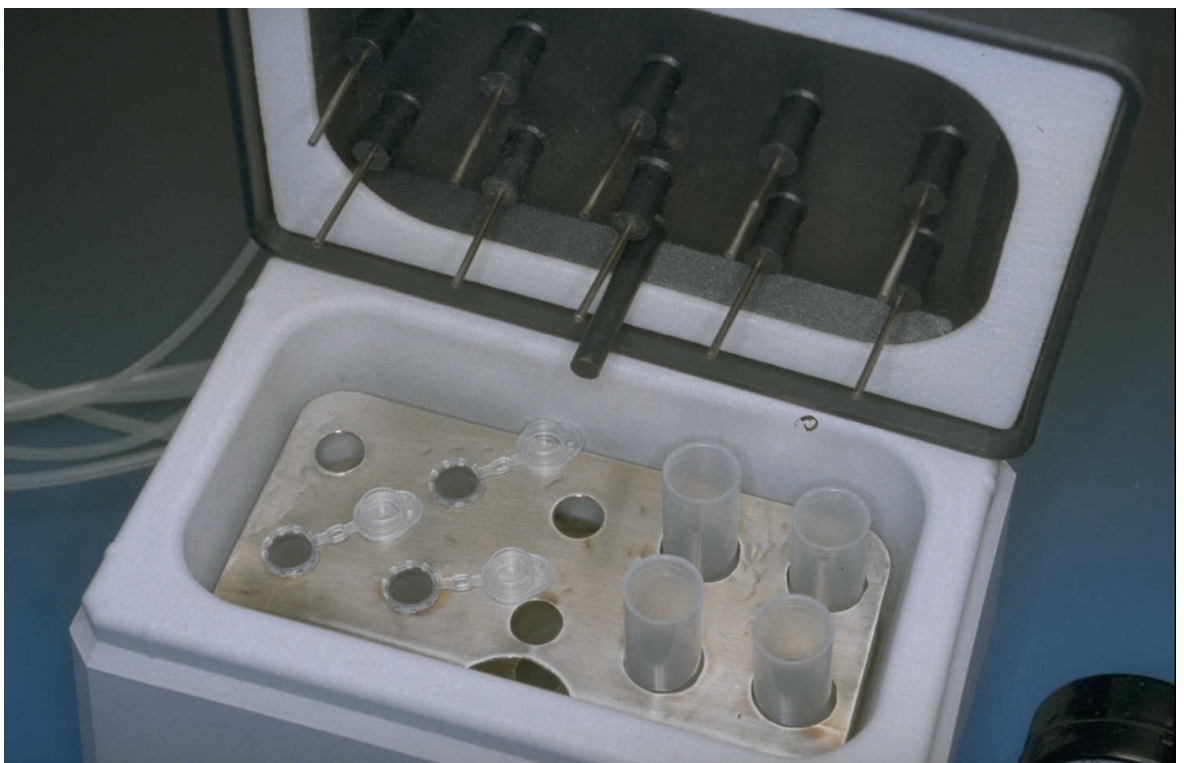


Abbildung 4: Unterdruckbox mit Probengefäßen



### 2.2.2 Vorgehensweise

Die gereinigte und getrocknete Apparatur wurde vor dem Einsetzen in den Mund komplett zusammengesetzt und an den Unterdruck angeschlossen. Mit dem zweiten Saugschlauch der Dentaleinheit wurde der bis dahin im Mundboden angesammelte Speichel entfernt. Dann wurde zuerst der individualisierte Oberkieferlöffel mit dem Gaumensauger eingesetzt, danach der Unterkieferlöffel appliziert und schließlich die Sauger für den Parotisspeichel platziert. Während 20 Minuten wurde dem Probanden in Ruhe auf dem Behandlungstuhl sitzend Speichel entnommen, anschließend die Apparatur aus dem Mund entfernt. Nachdem sich durch den Luftzutritt der Inhalt der Schläuche in die Probengefäße entleert hatte, wurden diese aus der Unterdruckbox entnommen, verschlossen und durch neue ersetzt.



Abbildung 5: Speichelentnahme in Ruhe

Der Proband wurde nun gebeten, auf dem Fahrradergometer Platz zu nehmen und mit dem Treten zu beginnen. Sobald eine Pulsfrequenz von über 100/min erreicht war, wurde die Apparatur erneut eingesetzt und für 20 Minuten Speichel entnommen. Währenddessen leistete der Proband körperliche Arbeit, um eine Pulsfrequenz von 140/min zu erreichen und möglichst konstant zu halten. Die Proben wurden sofort nach Entnahme unter Kühlung für 10 Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert, aus dem Überstand in fünf Portionen zu je 0,1 ml aliquotiert und bei - 80 °C eingefroren.



Abbildung 6: Speichelentnahme auf dem Fahrradergometer

### 2.3 Probenverarbeitung

Zur Messung der antiadhäsiven Kapazität des Speichels diente ein kompetitiver Lektinbindungs-Inhibitionstest (61). Dabei wird die Bindung eines pflanzlichen Lektins an seinen spezifischen Rezeptor durch die Speichelprobe entsprechend ihrem Gehalt an dem entsprechenden Rezeptorsaccharid verhindert.

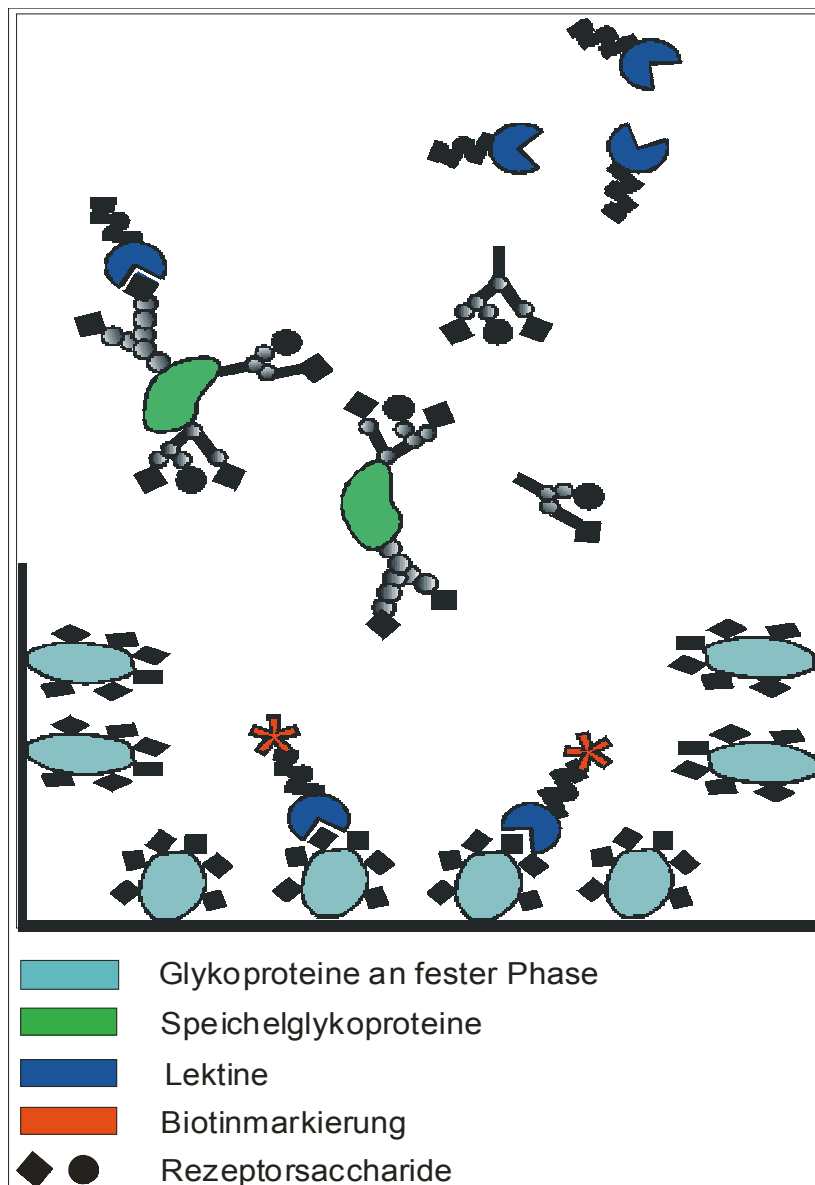


Abbildung 7: Prinzip des kompetitiven Lektinbindungs-Inhibitionstests. Aus Seemann 1996 (132)

Der bekannte Lektinrezeptor ist an ein Glykoproteins gebunden, mit dem die Mikrotiterplatte beschichtet wird. Diese wird mit der Speichelprobe und dem biotinmarkierten Lektin inkubiert. Nach der Inkubationszeit wird Streptavidin-peroxidase an das Biotin gebunden, um eine Farbreaktion zu katalysieren. Dadurch kann das nach der Inkubationszeit gebundene Lektin photometrisch bestimmt werden. Zum Vergleich wird eine Standardlösung des als Rezeptor bekannten Kohlenhydrats verwendet. Die verwendeten Lektine und ihre Bindungsspezifitäten sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4: Verwendete Pflanzenlektine und die an sie jeweils spezifisch bindenden Kohlenhydratstrukturen

Abkürzung	Lektin	Bindungsspezifität (WU et al. 1988)
AAA	Anguilla anguilla Agglutinin	$\alpha$ 1-2 gebundene Fucose
ConA	Concanavalin A	Trimannosyl Struktur in High-Mannose-Type-Glykanen
GNA	Galantus nivalis Agglutinin	terminale Mannose
GS1	Griffonia simplicifolia Agglutinin	terminales $\alpha$ -N-Acetyl-Galaktosamin terminale Galaktose
SNA	Sambucus nigra Agglutinin	terminale $\alpha$ -2,6 gebundene Sialinsäure
PNA	Peanut Agglutinin	$\beta$ -D-Galaktose-1,3 D-N-Acetyl-galaktosamin
VVA	Vicia villosa Agglutinin	terminales 1,3-N-Acetyl-galaktosamin
WGA	Wheat germ Agglutinin	1,4 $\beta$ -D-N-Acetyl-glukosamin

Die Konzentrationsbestimmung der verschiedenen Glykanstrukturen des Speichels erfolgte auf 96-well-Mikrotiterplatten. Maximal 10 Proben fanden auf einer Platte Platz, wobei jede Probe in vier Verdünnungsstufen als Doppelbestimmung aufgetragen wurde. Aus den Standardverdünnungen des für das Lektin spezifi-

schen Kohlenhydrats (Tabelle 5) jeder Platte wurde eine Standardkurve erstellt. Zusätzlich wurde eine Kontrollprobe aus einem Poolserum (unverdünnt und 1:3 verdünnt) gemessen. Die Zusammensetzung des Poolserums ist im Abschnitt „Materialien“ angegeben. In Abbildung 8 ist die räumliche Aufteilung einer Mikrotiterplatte schematisch dargestellt.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	LW	LW	1:7,5		Probe 3		Probe 5		Probe 7		Probe 9	
B	Standard		1:37,5									
C	Standard		1:187,5									
D	Standard		1:937,5									
E	Standard		Probe 2		Probe 4		Probe 6		Probe 8		Probe 10	
F	Standard											
G	Kontrolle (unverd.)											
	Kontrolle (1:3)											

Abbildung 8: Schematische Darstellung der Raumaufteilung einer Mikrotiterplatte im kompetitiven Lektin-Inhibitionstest (LW = Leerwert in Probenpuffer). Jede Probe wurde in vier Verdünnungen gemessen, jede Verdünnung als Doppelmessung in zwei Wells.

Zunächst erfolgte die Beschichtung der Platten mit den an das Glykoprotein gebundenen spezifischen Kohlenhydraten in der Konzentration 1 µg/ml. Die Verdünnung erfolgte mit Phosphatpuffer. Pro Well wurden 100 µl eingebracht und eine Stunde bei Zimmertemperatur auf einem Rüttler inkubiert.

Während der Inkubationszeit wurden die Standards und Speichelproben vorbereitet. Nach dem Auftauen und 3-minütigem Zentrifugieren (10.000 g) der Speichelproben erfolgte die erste Verdünnung auf 1:7,5 mit Probenpuffer. Bis zum Erhalt von insgesamt vier Verdünnungen wurde jeweils um den Faktor 5 weiterverdünnt. Die Standards wurden entsprechend den Angaben in der Tabelle 5 in fünf Verdünnungsstufen erstellt. Die jeweiligen Verdünnungsfaktoren wurden in Vorversuchen empirisch ermittelt. Nach viermaligem Waschen der Platten wurden pro Well 25 µl der Standard-, Kontroll- oder Probenlösung aufgetragen und durch 75 µl der Lektin-Lösung in der jeweiligen Verdünnung (siehe Tabelle 5) auf 100 µl ergänzt. Die Platten wurden anschließend eine halbe Stunde gerüttelt und über Nacht bei +4°C zur Einstellung des Gleichgewichts inkubiert.

Am darauffolgenden Tag wurden die Platten erneut viermal gewaschen und pro Well 100 µl Streptavidinperoxidase in einer Verdünnung von 50 µg/ml pipettiert. Darauf schloß sich eine einstündige Inkubationsphase auf einem Rüttler bei Raumtemperatur an.

Tabelle 5: Beschichtung der Mikrotiterplatten mit der für das jeweilige Lektin spezifischen Kohlenhydratstruktur und verwendete Standardlösung zum Vergleich mit der Inhibitionswirkung der Speichelprobe.

LAP=Lektinassay-Puffer, BSA=bovines Serumalbumin, PBS=Phosphatpuffer

Lektin	Beschichtung (1:1000 in PBS)	Standard
Anguilla anguilla Agglutinin 1:40 000 in LAP* + 0,1% BSA	BSA-Fucosylamid	Fucose, 300 mM Verd.1 1:4; Verd.2-5 1:3; 6. LW in Probenpuffer
Concanavalin A 1:40 000 in LAP* + 0,1%BSA	BSA- $\alpha$ -Mannopyranosid	Methyl- $\alpha$ -Mannopyranosid, 300 mM Verd.1 1:10; Verd.2-5 1:3;
Galantus nivalis Agglutinin 1:20 000 in LAP* + 0,1% BSA	BSA- $\alpha$ -Mannopyranosid	Mannan, 0,4 mg/l Verd.1 1:1000; Verd.2-5 1:3; 6. LW in Probenpuffer
Griffonia simplicifolia Agglutinin 1:40 000 in LAP* + 0,1% BSA	BSA- N-Acetyl- Galaktosamin	N-Acetyl-Galaktosamin, 300 mM Verd.1 1:10; Verd.2-5 1:8; 6. LW in Probenpuffer + 1mM
Sambucus nigra Agglutinin 1:40 000 in LAP* + 0,1% BSA	Fetuin	6' Sialyllaktose, 1mg/l N-Acetyl- Neuramin-Laktose Verd.1 1:25; Verd.2-5 1:3;
Peanut Agglutinin 1:20 000 in LAP* + 0,1% BSA	BSA-Gal-1,3-N-Acetyl- Galaktosamin	Methyl- $\alpha$ -D-Galaktopyranosid, 300mM Verd.1 1:10; Verd.2-5 1:2;
Vicia villosa Agglutinin 1:40 000 in LAP* + 0,1% BSA	BSA-Galaktosamin	N-Acetyl-Galaktosamin, 300mM Verd.1 1:10; Verd.2-5 1:8; 6. LW in Probenpuffer + 1mM
Wheat germ Agglutinin 1:20 000 in LAP* + 0,1%BSA	N-Acetyl-saures- Glykoprotein	N-Acetyl-Glukosamin, 300mM Verd.1 1:5; Verd.2-5 1:4 6. LW in Probenpuffer

Nach erneutem viermaligem Waschen wurden 110  $\mu$ l pro Well des frisch angesetzten chromogenen Substrates TMB-Gallati (10  $\mu$ g/ml) für 10 Minuten bei

Dunkelheit inkubiert, bis eine abgestufte Blaufärbung in den Wells sichtbar wurde. Dieser enzymatische Farbumschlag wurde mittels 50 µl einer 4N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Lösung gestoppt. Die dadurch eingetretene Gelbfärbung wurde photometrisch gemessen.

Die Stärke der Farbreaktion hängt von der Menge des an die Mikrotiterplatte gebundenen Lektins ab. Je stärker die Reaktion der Speichelprobe mit dem Lektin ist, desto weniger Lektin bindet noch an das Kohlenhydrat auf der festen Phase der Platte. Die Konzentration des Lektinrezeptors in der Speichelprobe wird als Prozent des bekannten Standards angegeben. Damit kann auf die Menge des für das Lektin spezifischen Kohlenhydrates in der Probe geschlossen werden. Eine typische Meßwertgrafik zeigt Abbildung 9.

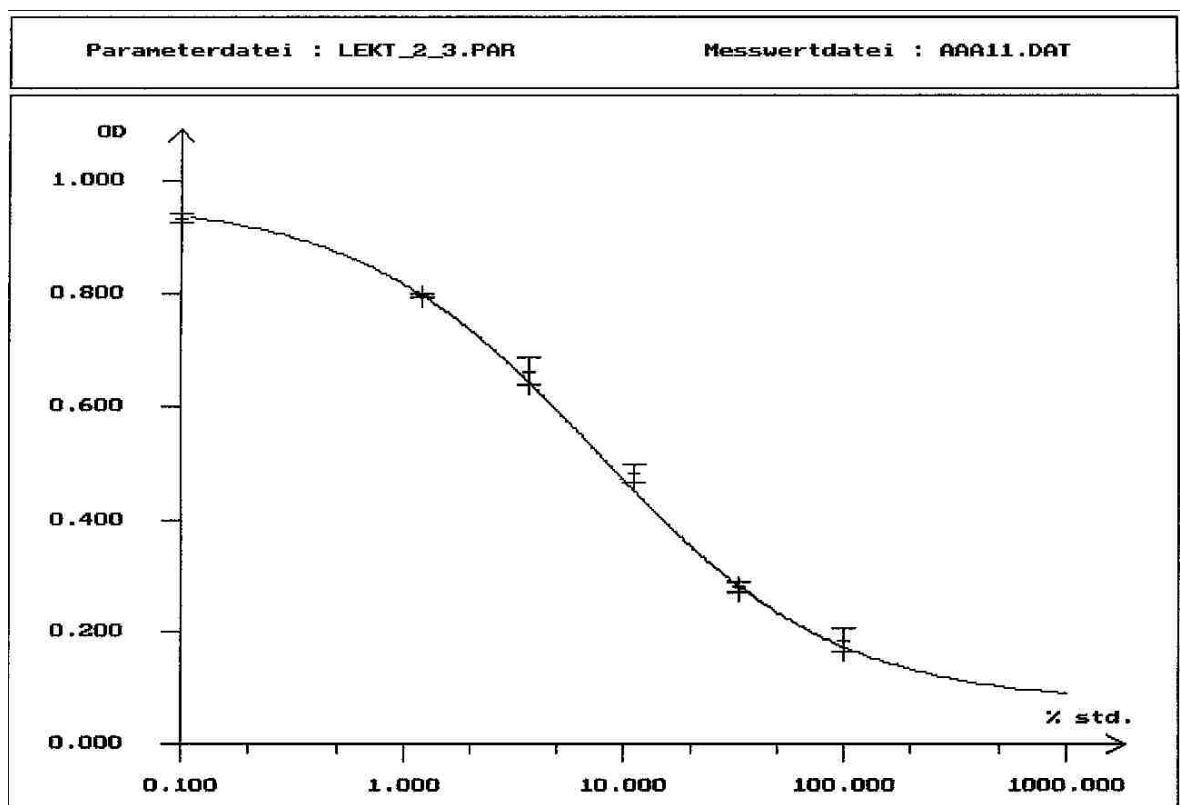


Abbildung 9: Meßwertgrafik. OD = Optische Dichte, % std. = Prozent vom Standard



## 2.4 Statistik

Die Messung der Proben erfolgte blind, d.h. aufgrund der neutralen Kodierung der Probenröhrchen war bei der Durchführung der Laboruntersuchung keine Zuordnung der Proben zu den Probanden oder Entnahmestellen möglich. Da die Lektinbindungsaktivität der einzelnen Drüsen, insbesondere unter der Belastung auf dem Ergometer, nicht hinreichend bekannt war und die Probenmengen von den kleinen Speicheldrüsen stark begrenzt waren, wurden die Proben in vier Verdünnungen parallel untersucht. Dieses Verfahren ermöglichte eine sehr sichere Validierung der Proben ohne Kenntnis ihres Ursprungs. Es wurden Proben bzw. Werte eliminiert und, wo möglich, neu gemessen, wenn die Standardabweichung der Meßwertwiederholungen mehr als 25% (Ausreißerkriterium) betrug oder die Verdünnungen der einzelnen Proben keinen kontinuierlichen Abfall der Lektinbindungsaktivität zeigten. Zeigten sich diese Auffälligkeiten bei einzelnen Meßwertkurven, wurde die betreffende Probenserie insgesamt neu gemessen.

Aus den vier Verdünnungsstufen der Speichelproben wurde diejenige zur Beurteilung herangezogen, bei der die größte Anzahl der Einzelwerte für die relative Konzentration im linearen Bereich der Kurve lagen. Nach der analytischen Überprüfung der Meßergebnisse erfolgte eine Zusammenführung der laufenden Labornummer zu den jeweiligen Speichelproben der einzelnen Probanden. Die nachfolgenden Berechnungen wurden mit dem Programm SPSS 6.0 für Windows 3.1 auf einem IBM-kompatiblen Rechner mit 386er- und mathematischem Koprozessor durchgeführt. Für den Vergleich der Parodontitispatienten mit den Kontrollen wurde der nichtparametrische Mann-Whitney-Test, für den Vergleich innerhalb der Gruppen vor und nach Stimulation der nichtparametrische Wilcoxon-Test verwendet.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Speichelmenge

In der Tabelle 6 sind die Mengen der entnommenen Speichelproben zusammengestellt. Die Mengen wurden durch Wiegen der Probengefäße nach der Entnahme und Abzug des Gefäßgewichtes festgestellt. Da sich statistisch bei den paarigen Drüsen keine Unterschiede nach links und rechts ergaben, sind die getrennt entnommenen Proben für den jeweiligen Patienten rechnerisch zusammengefaßt worden. Für die Speichelmenge geschah dies durch einfache Addition der Werte. Für Rechnungen mit Konzentrationsangaben wurden die Werte für die Konzentration mit der jeweiligen Probenmenge multipliziert, die sich daraus ergebenden Sekretionsraten für links und rechts addiert und durch die Summe der beiden Probenmengen geteilt, somit der Mittelwert aus den Messergebnissen der paarigen Drüsen gebildet.

Aus den Parotisdrüsen und den Sublingual-/Submandibulardrüsen konnten bei allen Probanden meßbare Proben gewonnen werden, wie aus der Anzahl der Proben in der Tabelle 6 ersichtlich ist. Aus den kleinen Speicheldrüsen ließen sich nur in etwas mehr als der Hälfte der Fälle meßbare Speichelmengen gewinnen.

In der Tabelle 6 sind die Mengen der linken und rechten Drüse eines jeden Probanden bereits addiert. Es wird deutlich, daß selbst bei einer Entnahmedauer von 20 Minuten die produzierte Speichelmenge pro Drüsenpaar der Probanden in der Größenordnung einer Zehnerpotenz schwanken kann. Bei 9 der insgesamt 44 Messungen, verteilt auf 6 der 22 Probanden, wurden große Unterschiede zwischen der Sekretion der linken und der rechten paarigen Drüsen gefunden, d.h. eine der Drüsen sezernierte mindestens die doppelte Menge der anderen Seite. Drei der Probanden zeigten diesen Unterschied sowohl vor als auch unter körperlicher Belastung, wobei die aktivere Drüse jeweils dieselbe war. Von den anderen 3 Fällen besteht der Unterschied zweimal vor und einmal unter körperlicher Belastung. Die aktivere Drüse war in 4 Fällen die der rechten Seite, in den anderen 5 Fällen die der linken Seite. In der Mehrheit war die gewonnene Menge

aus der linken und der rechten Drüse jedoch sehr ähnlich.

Tabelle 6: Gemessene Speichelmengen in Gramm (=Milliliter) über eine Entnahmedauer von 20 Minuten

Drüse	Probanden	Zustand	Probenanzahl	Minimum	Maximum	Median
Parotis	Kontrolle	in Ruhe	11	0,95	11,88	5,02
		unter Last	11	0,93	11,11	4,33
	RPP	in Ruhe	11	0,73	10,70	5,06
		unter Last	11	2,70	8,69	5,54
Submand./ Subling.	Kontrolle	in Ruhe	11	6,43	16,43	9,50
		unter Last	11	4,45	13,39	7,96
	RPP	in Ruhe	11	3,94	14,75	7,11
		unter Last	11	1,55	12,25	8,27
Palatinales	Kontrolle	in Ruhe	9	0,04	0,25	0,16
		unter Last	8	0,12	1,12	0,19
	RPP	in Ruhe	2	0,18	0,24	0,21
		unter Last	6	0,09	0,24	0,16
Labiales	Kontrolle	in Ruhe	9	0,07	0,76	0,16
		unter Last	10	0,23	1,52	0,51
	RPP	in Ruhe	5	0,14	0,36	0,22
		unter Last	4	0,09	0,78	0,28

Während der Speichelentnahmen konnte in den Schläuchen, die von den Parotissaugern kamen, beobachtet werden, daß die Sekretion der Drüsen nicht simultan erfolgte. Die Flüssigkeitssäulen wurden intermittierend mit unterschiedlicher Frequenz und Amplitude vorangetrieben. Sehr häufig füllte bei Beginn der Entnahme die Parotis der einen Seite bereits den gesamten Schlauch von ca. 80cm Länge, bevor eine Sekretion der anderen Seite im Schlauch sichtbar wurde. Die zeitliche Differenz konnte bis zu 5 Minuten betragen. Dies führte jedoch nicht zu den oben genannten großen intraindividuellen Unterschieden in der Sekretionsleistung. Die später ansprechende Drüse holte im Verlauf der Probenentnahme die Differenz häufig durch quantitativ größere Sekretionsschübe auf.

Die Anzahl der Proben, die von den kleinen Speicheldrüsen im Gaumen und der Unterlippe gewonnen wurde, war nicht ausreichend, um sie für statistische Vergleiche heranziehen zu können. Einzig ihr Anteil an der Gesamtspeichelmenge ist in die folgenden Abbildungen 10 und 11 eingeflossen. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß nur kleine Regionen der Schleimhautoberfläche von den Saugern erfaßt wurden. Ihr tatsächlicher Beitrag zum Gesamtspeichel ist wesentlich größer. Die von den Saugern für die kleinen Speicheldrüsen abgedeckten Areale betragen nur ca. 10 % der gesamten Schleimhautoberfläche der Mundhöhle von ca. 200 cm<sup>2</sup>. Die Drüsendichte ist dabei je nach Region in der Mundhöhle sehr unterschiedlich, so daß eine Hochrechnung der gewonnenen Speichelmenge mit einem großen Unsicherheitsfaktor behaftet ist und deshalb hier unterlassen wird. Aus den Abbildungen 10 und 11 geht der Anteil der einzelnen Drüsen an der entnommenen Gesamtspeichelmenge hervor. Unter körperlicher Belastung geht der Anteil der Unterkieferdrüsen geringfügig zurück, die kleinen Drüsen stellen einen in etwa gleichem Maße größeren Anteil. Die von der Parotis sezernierte Menge bleibt gleich.

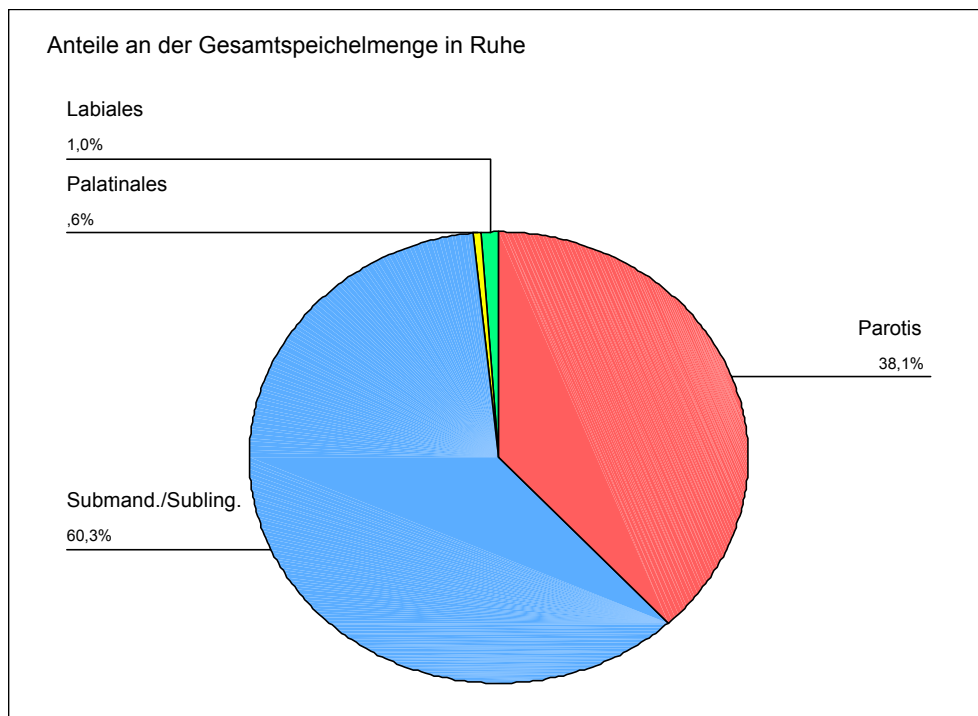


Abbildung 10: SPSS Grafik 1: Anteile an der Gesamtspeichelmenge in Ruhe

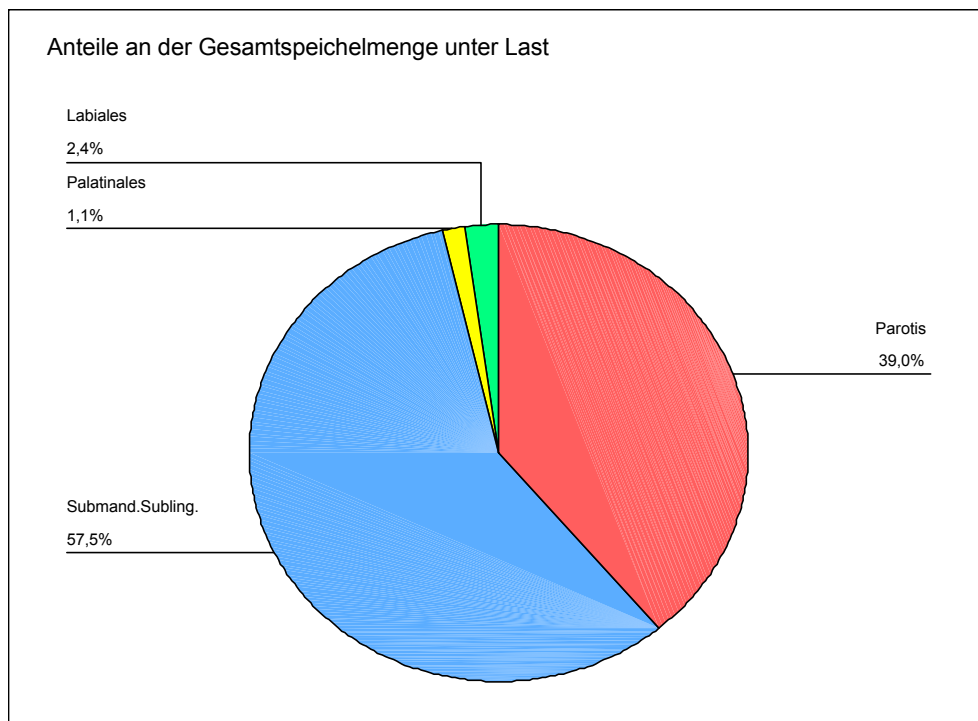


Abbildung 11: SPSS Grafik 2: Anteile an der Gesamtspeichelmenge unter körperlicher Belastung

### 3.2 Lektinbindung

Im folgenden werden die relativen Bindungskapazitäten der Speichelproben in graphischer Form dargestellt, für die signifikante Unterschiede zwischen der Gruppe der RPP-Patienten und der Kontrollgruppe, sowie im zweiten Teil Unterschiede innerhalb der Gruppen zwischen Ruhe und körperlicher Belastung ermittelt wurden.

Zur besseren grafischen Darstellung wurde die Abweichung der Einzelmeßwerte vom Median aller in der jeweiligen Grafik verarbeiteten Meßwerte errechnet und dividiert durch das Intervall zwischen dem 05. und dem 95. Perzentil:

Relative Bindungskapazität =  
(Einzelmesswert - minus - Median aller Messwerte) - durch - (Perzentil 95 - minus - Perzentil 05 aller Messwerte)

Während die Konzentration eines Lektinrezeptors im Speichel der entscheidende Faktor für seine antiadhäsive Potenz ist, läßt die Sekretionsrate auf die Aktivität des Glykosylierungsapparates der entsprechenden Speicheldrüse schließen.

Für die Grafiken mit gelben Balken wurde die relative Sekretionsrate aus der relativen Konzentration durch Multiplikation mit der Flüssigkeitssekretion pro Minute der entsprechenden Probe errechnet.

Relative Sekretionsrate = (Relative Konzentration) - mal - (Probenmenge in ml - durch - Entnahmenzeit in Minuten)

Die erhaltenen Werte wurden für die Grafiken in gleicher Weise verrechnet wie für die relative Bindungskapazität

Sekretion der relativen Bindungskapazität =  
(Relative Sekretionsrate - minus - Median aller relativen Sekretionsraten) - durch - (Perzentil 95 - minus - Perzentil 05 aller relativen Sekretionsraten)

Diese Darstellung macht Übereinstimmung oder Unterschied besonders gut deutlich, da sich die Werte um die Nulllinie herum anordnen, bei Übereinstimmung weitgehend decken und bei Unterschieden nach oben und unten von der Nulllinie abweichen. In den Grafiken wird der Median jeweils durch den schwarzen Balken innerhalb des farbigen Kastens repräsentiert. Der Kasten selbst und die Ausleger stellen die interquartilen Bereiche dar. Werte, die außerhalb der 1,5 fachen Kastenlänge liegen, wurde in den Grafiken unterdrückt. Gezeigt werden jeweils eine Grafik für die relative Bindungskapazität und eine Grafik für die Sekretion der relativen Bindungskapazität nacheinander, um für das jeweilige Lektin die Bindungsfähigkeit des Speichels und die Aktivität des Glykosylierungsapparates in der Produktion des entsprechenden Rezeptors darzustellen. Die Signifikanzwerte aus den statistischen Vergleichen wurden vor der Verrechnung der Daten für die grafische Darstellung ermittelt und in die Grafiken eingefügt. Zum optischen Vergleich mit den statistisch relevanten Unterschieden werden vorweg die Daten für das Lektin Anguilla Anguilla Agglutinin präsentiert, bei dem sich für den Verleich von RPP-Patienten mit Kontrollen keine signifikanten Unterschiede ergaben.

### 3.2.1 Vergleich RPP mit Kontrollen in Ruhe und unter körperlicher Belastung

In diesem Teil werden die Meßwerte für die RPP-Patienten mit denen der Kontrollen verglichen und graphisch gegenübergestellt. Die Werte für den Ruhezustand und den Zustand unter körperlicher Belastung sind jeweils in einer Grafik nebeneinander dargestellt.

#### 3.2.1.1 *Lektin Anguilla Anguilla Agglutinin, spezifisch für $\alpha$ 1-2 gebundene Fucose*

Für die realtive Bindungskapazität an  $\alpha$ 1-2 gebundene Fucose konnten Unterschiede zwischen RPP-Patienten und Kontrollen für keines der Drüsenpaare, weder in Ruhe noch unter körperlicher Belastung, festgestellt werden. Auch die errechnete Aktivität des Glycosylierungsapparates in Bezug auf den Einbau  $\alpha$ 1-2 gebundener Fukose in die Speichelglykokonjugate zeigte keinen Unterschied zwischen RPP-Patienten und Kontrollen.

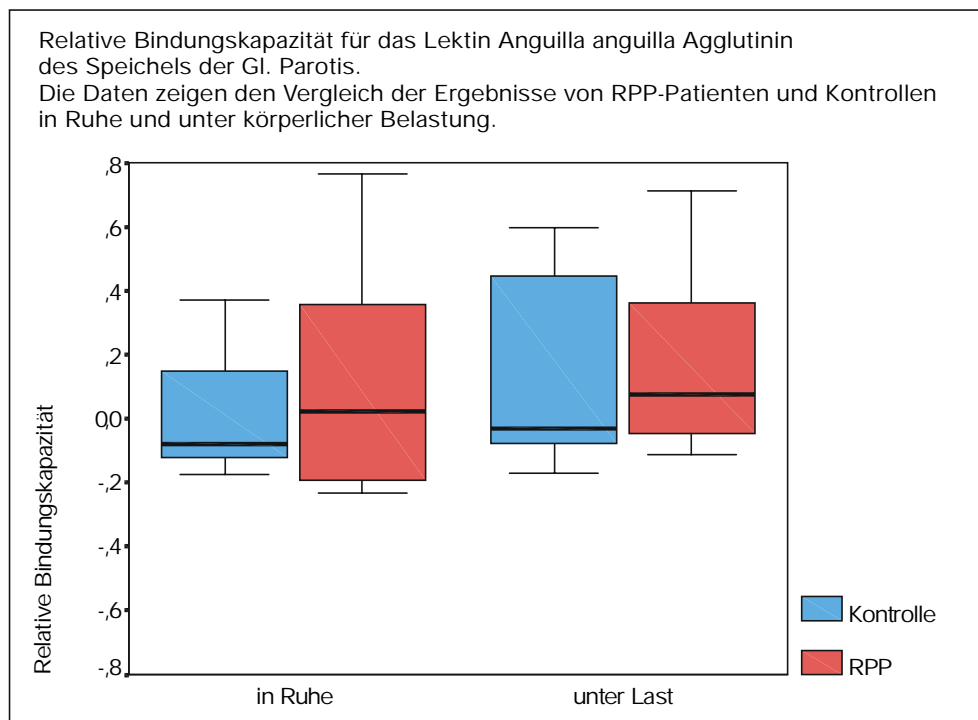


Abbildung 12: SPSS Grafik 3

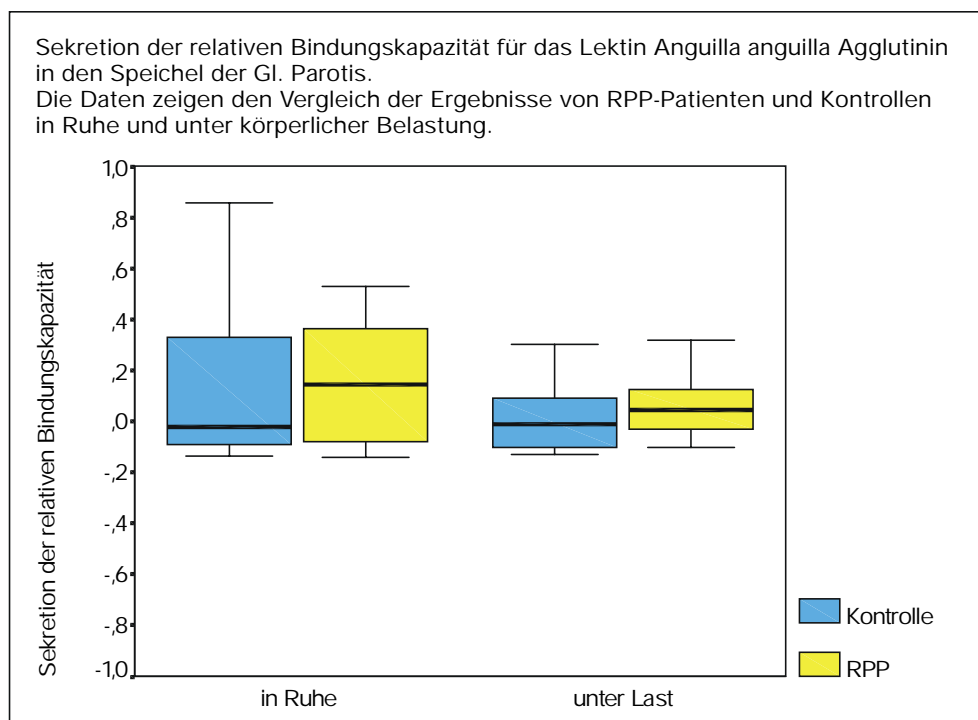


Abbildung 13: SPSS Grafik 4



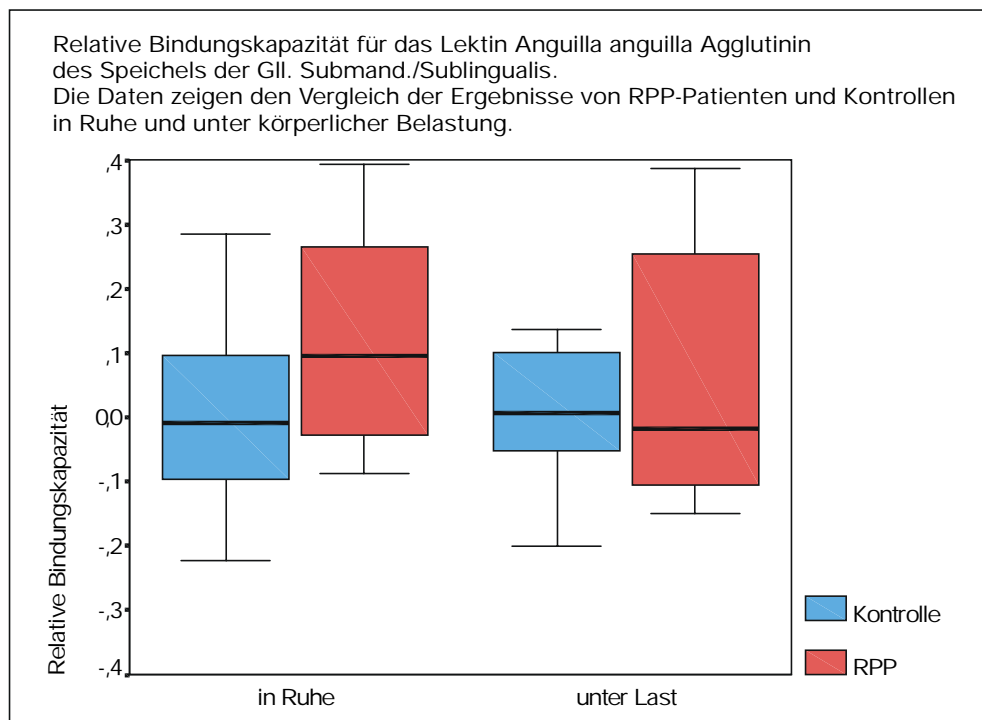


Abbildung 14: SPSS Grafik 5

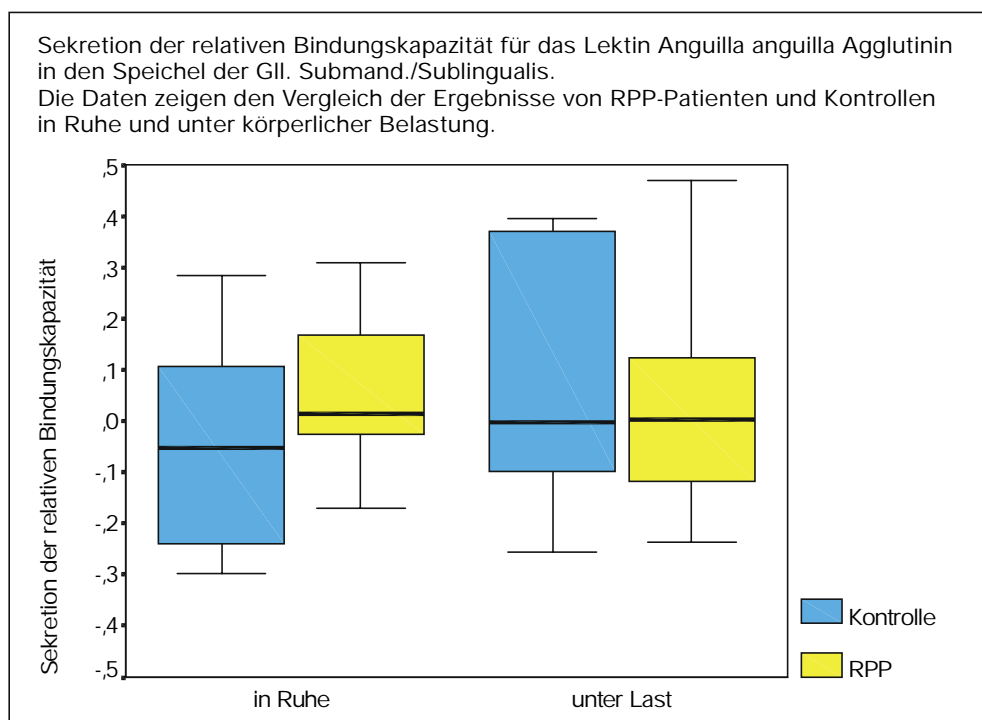


Abbildung 15: SPSS Grafik 6

### *3.2.1.2 Lektin Concanavalin A, spezifisch für Trimannosylstrukturen*

Die relative Bindungskapazität des Parotisspeichels an Concanavalin A ist unter körperlicher Belastung in der RPP-Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe ( $p < 0,05$ ). Die errechneten Werte für die Sekretion von Trimannosylstrukturen pro ml Parotisspeichel/min ergeben unter körperlicher Belastung eine höhere Aktivität des Glykosylierungsapparates der RPP-Patienten. In Ruhe sind diese Unterschiede zwischen RPP-Patienten und Kontrollen nicht festzustellen (keine Grafiken gezeigt).

Für die Parotis ist damit bei den RPP-Patienten relativ zur Kontrollgruppe eine Erhöhung der Produktion von Trimannosylstrukturen (relative Sekretionsrate) unter körperlicher Belastung festzustellen, die sich auf die relative Konzentration dieser Lektinrezeptoren im Parotisspeichel auswirkt.

Für die Gll. submandibulares/sublinguales liegen die Werte für die relative Bindungskapazität und für die Sekretion von Trimannosylstrukturen in den Speichel bei den RPP-Patienten sowohl in Ruhe als auch unter körperlicher Belastung signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Folglich besteht bei den RPP-Patienten eine höhere Aktivität des Glykosylierungsapparates der Gll. submandibulares/sublinguales im Gegensatz zur Parotis schon in Ruhe. Eine Veränderung des Verhältnisses zu den Kontrollen unter Belastung ist nicht festzustellen.

Die Unterschiede in der Produktion und Sekretion von Trimannosylstrukturen mit der entsprechenden Wirkung auf die relative Konzentration und die relative Sekretionsrate sind in den Grafiken auf den folgenden zwei Seiten dargestellt.

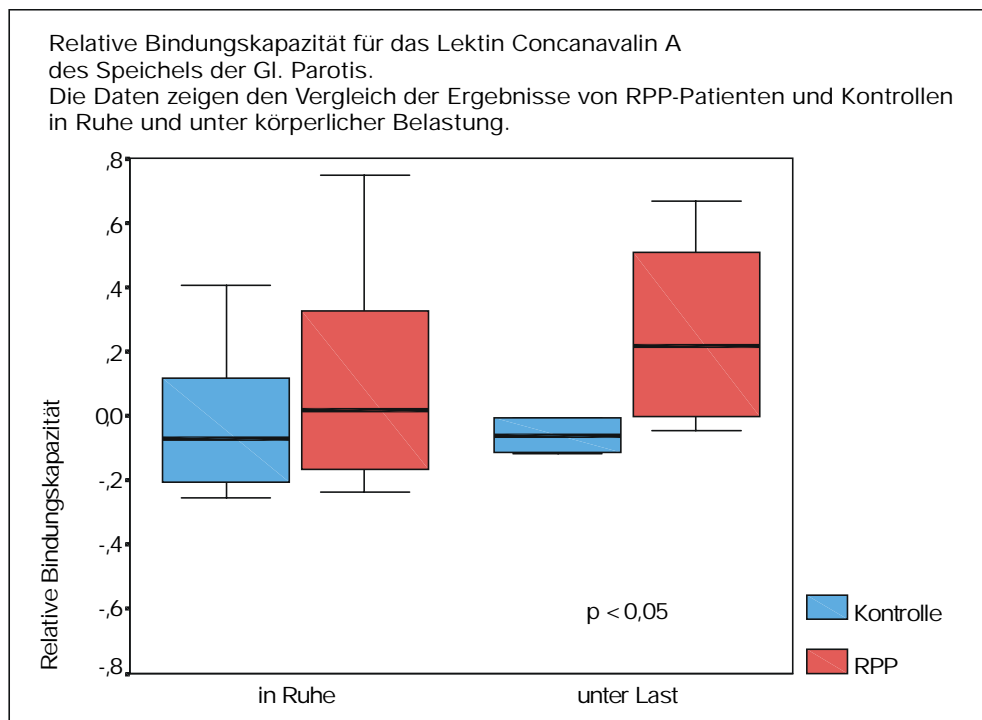


Abbildung 16: SPSS Grafik 7

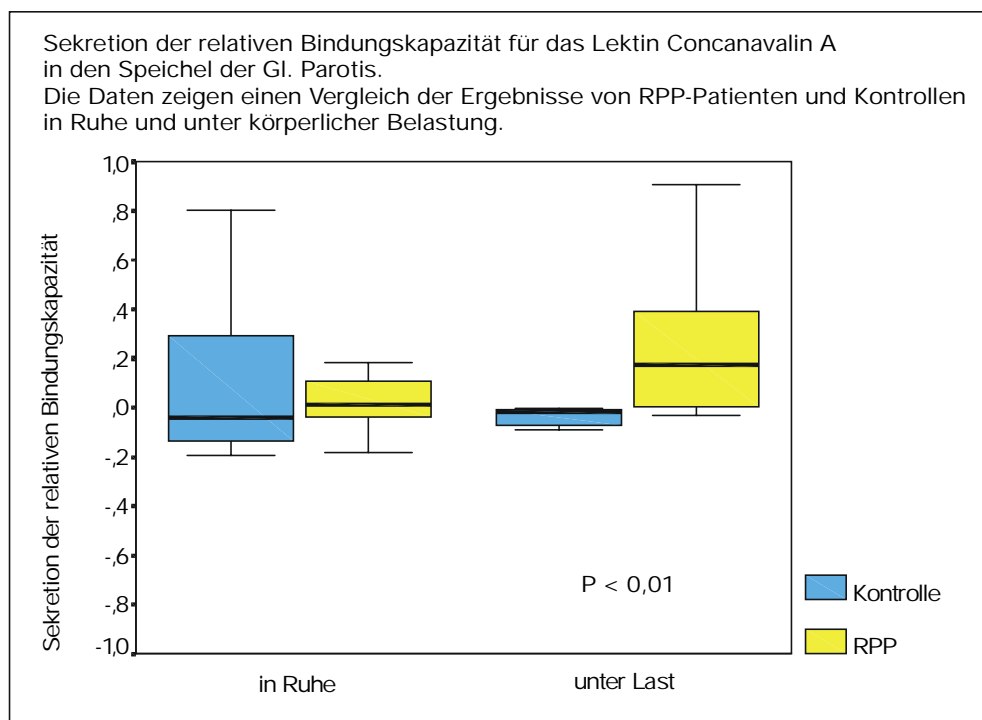


Abbildung 17: SPSS Grafik 8

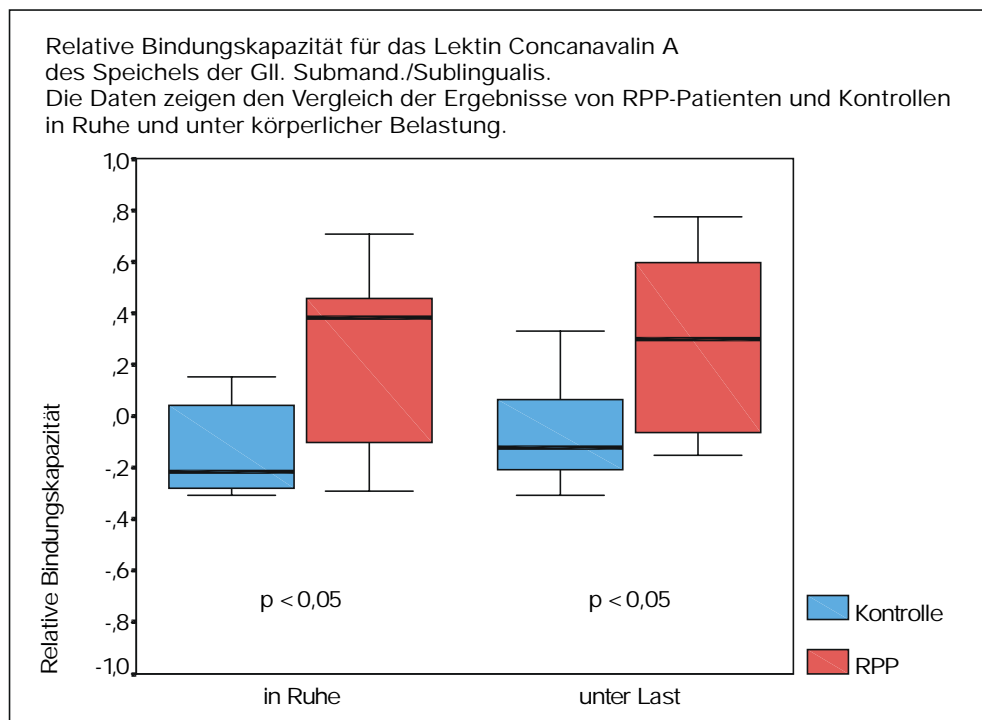


Abbildung 18: SPSS Grafik 9

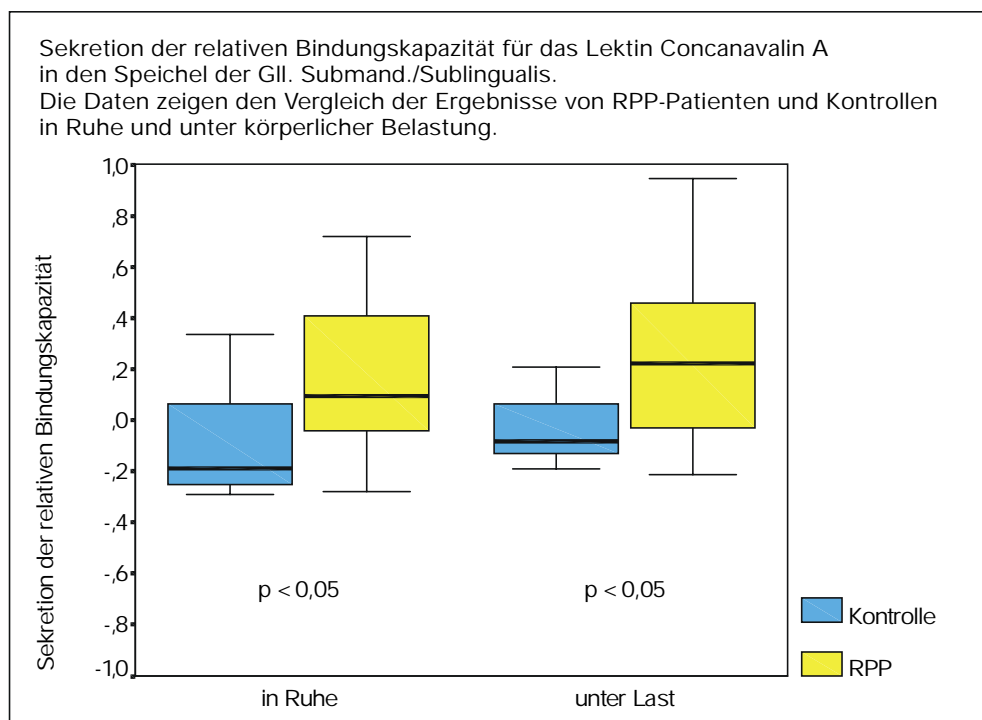


Abbildung 19: SPSS Grafik 10

### 3.2.1.3 Lektin *Galanthus Nivalis* Agglutinin, spezifisch für entständige Mannosereste

Die relative Bindungskapazität des Speichels der Submandibular-/ Sublingualdrüsen an das Lektin GNA ist für die RPP-Patienten in Ruhe und unter körperlicher Belastung signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Aus der Grafik für die Sekretion ist optisch ein Unterschied ebenfalls in der Aktivität des Glykosylierungsapparates erkennbar, der jedoch statistisch nicht signifikant ist. Im Parotisspeichel ist lediglich für die Sekretion der relativen Bindungskapazität unter Belastung eine Tendenz ( $p < 0,07$ ) zu einer höheren Sekretion bei den RPP-Patienten zu erkennen. Die entsprechende Grafik wird im Abschnitt 3.2.2.3 (Veränderungen durch körperliche Belastung innerhalb der Gruppen) gezeigt und besprochen. Die relative Bindungskapazität des Parotisspeichels war nicht unterschiedlich zwischen den Gruppen (keine Grafiken gezeigt).

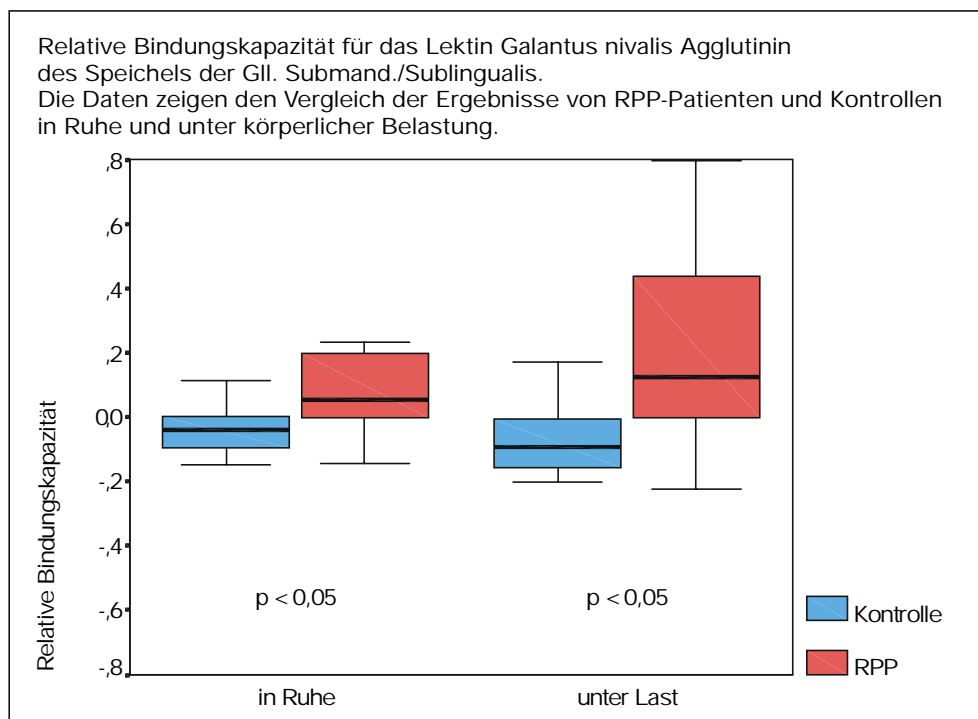


Abbildung 20: SPSS Grafik 11

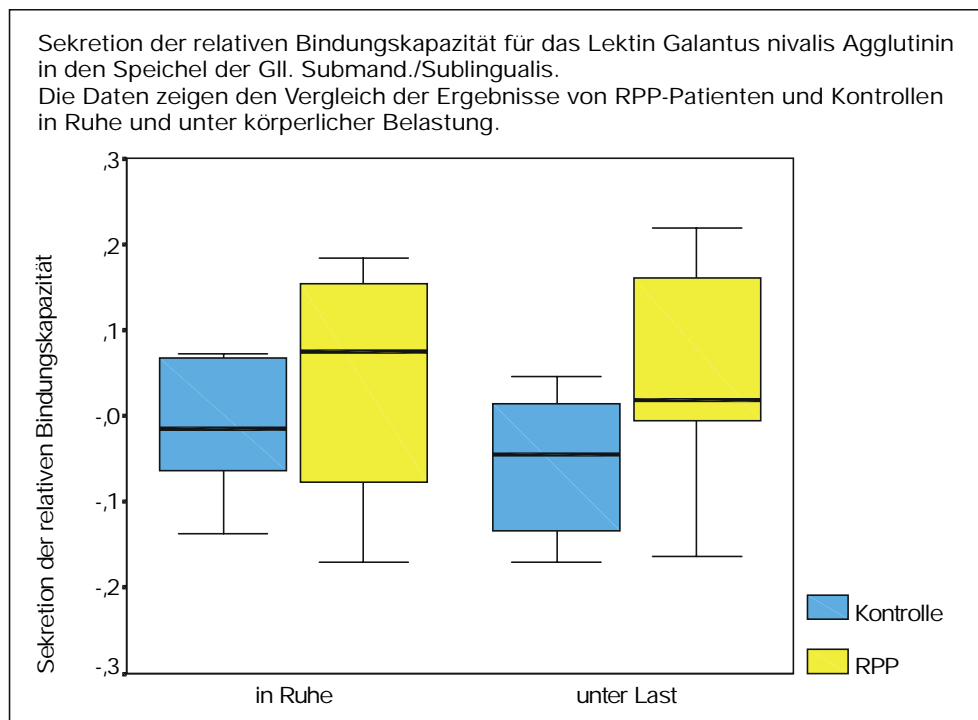


Abbildung 21: SPSS Grafik 12

#### 3.2.1.4 Lektin *Griffonia Simplicifolia* Agglutinin, spezifisch für terminales $\alpha$ -N-Acetyl-Galaktosamin bzw. terminale Galaktose

Die relative Bindungskapazität des Speichels der Submandibular-/ Sublingualdrüsen an das Lektin GS1 ist vergleichbar mit der Reaktion auf das Lektin Concanavalin A. Auch hier liegen die Werte der RPP-Patienten in Ruhe und unter Belastung signifikant über denen für die Kontrollgruppe. Aus der Grafik für die Sekretion der relativen Bindungskapazität geht optisch ebenso ein Unterschied zwischen den RPP-Patienten und den Kontrollen hervor, der statistisch aber nicht signifikant ist.

Für eine statistische Auswertung der Messung des Parotisspeichels standen nicht genügend Daten zur Verfügung, da der größte Teil der Messungen entsprechend den im Abschnitt 2.4 (Statistik) genannten Kriterien für die Zuverlässigkeit der Messwerte eliminiert werden mußte.

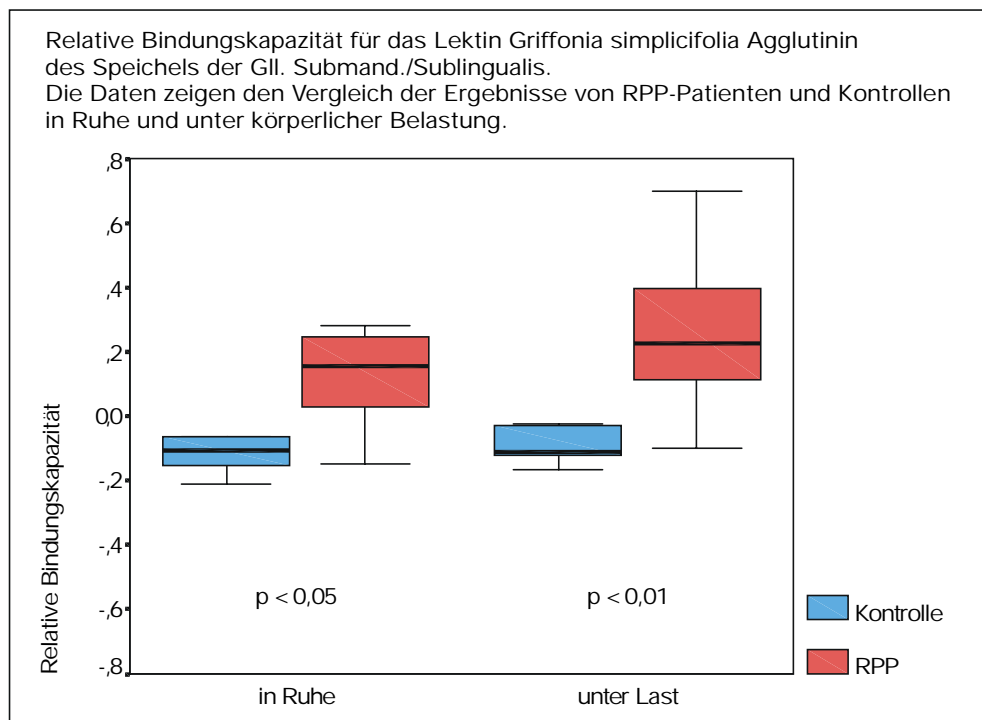


Abbildung 22: SPSS Grafik 13

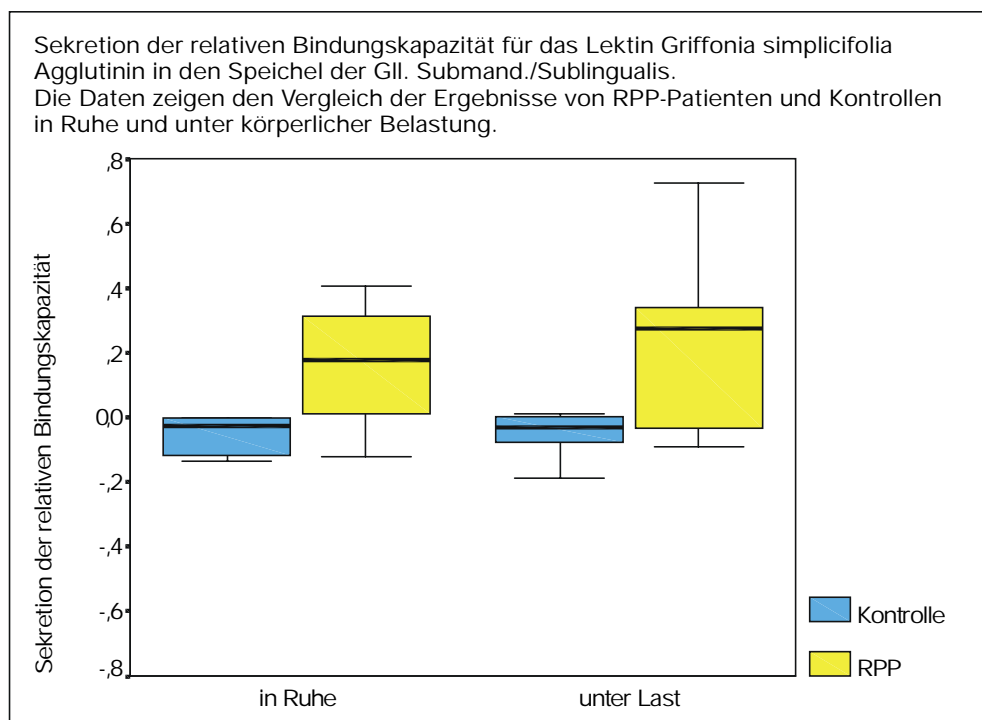


Abbildung 23: SPSS Grafik 14

### 3.2.1.5 Lektin Weizenkeim Agglutinin, spezifisch für 1,4 $\beta$ -D-N-Acetyl-glukosamin

Ein signifikanter Unterschied zwischen RPP-Patienten und Kontrollen fand sich nur in der aus der relativen Konzentration durch Multiplikation mit der Probenmenge pro Minute errechneten relativen Sekretionsrate von Acetylglukosamin in den Parotisspeichel. Sie ist unter körperlicher Belastung in der RPP-Gruppe gegenüber den Kontrollen erhöht. Obwohl der Median der relativen Konzentration in der RPP-Gruppe unter körperlicher Belastung auf etwa den doppelten Wert ansteigt und der Anstieg größer ist als in der Kontrollgruppe, ist der Unterschied nicht signifikant. Ein unterschiedliches Verhalten der Parotis bei RPP-Patienten und Kontrollen wird erst deutlich durch Verrechnung der Werte für die Konzentration mit der Probenmenge. Statistisch ist die relative Bindungskapazität des Speichels für Acetylglukosamin nicht unterschiedlich zwischen RPP-Patienten und Kontrollen, wohl aber liegt die Aktivität des Glykosylierungsapparates der RPP-Patienten unter körperlicher Belastung über der der Kontrollen.

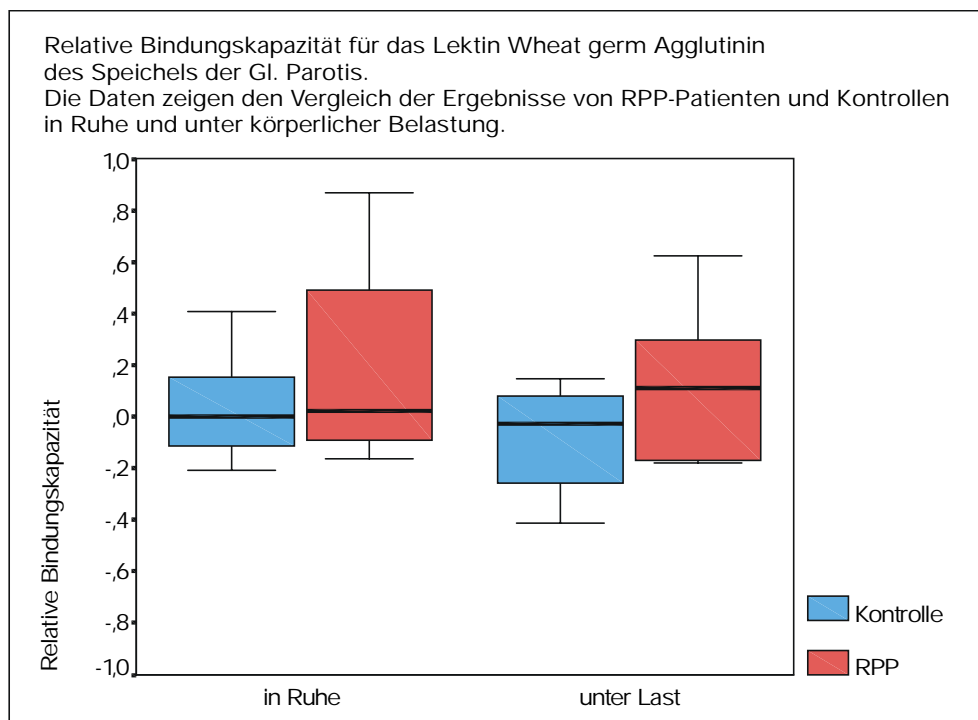


Abbildung 24: SPSS Grafik 15



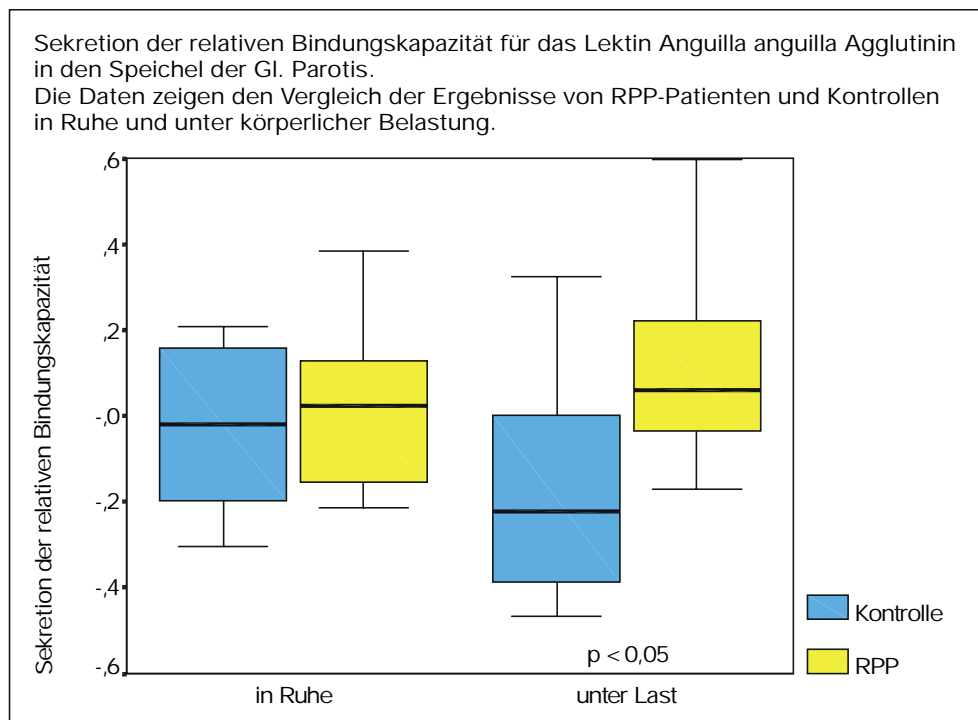


Abbildung 25: SPSS Grafik 16

Für die Parotis standen nach der Elimination fehlerhafter Meßreihen unter den im Abschnitt 2.4 (Statistik) ersichtlichen Kriterien nicht genügend Werte zu Verfügung. Eine erneute Messung war wegen zu geringer Probenmengen nur in wenigen Fällen möglich.

Die optische Darstellung der Daten in den Grafiken zeigt, daß auch dort, wo sich kein statistisch signifikanter Unterschied ergibt (kein p-Wert angegeben), unter körperlicher Belastung die Werte zwischen Kontrollen und RPP-Patienten weiter auseinanderklaffen als in Ruhe, und zwar immer in Richtung einer höheren relativen Bindungskapazität bzw. relativen Sekretionsrate für die Gruppe der Erkrankten. Dies trifft nur für das Lektin AAA nicht zu.

### 3.2.2 Veränderungen durch körperliche Belastung innerhalb der Gruppen

Um den Effekt der körperlichen Belastung auf die Speicheldrüsen zu untersuchen, wurden innerhalb der Gruppen die Werte für Ruhespeichel mit den Werten unter adrenerger Stimulation verglichen.

### 3.2.2.1 Lektin *Anguilla Anguilla* Agglutinin, spezifisch für $\alpha$ -1-2 gebundene Fucose

Die Bindungsfähigkeit des Speichels der Gll. submandibulares/sublinguales an AAA steigt unter körperlicher Belastung in der Kontrollgruppe an, während dieses Verhalten in der RPP-Gruppe nicht auftritt. Werden die ermittelten Werte für die relative Konzentration jedoch mit der Probenmenge pro Zeiteinheit verrechnet, ist kein Unterschied mehr feststellbar. Die gegenüber dem Ruhezustand unter körperlicher Belastung höhere relative Bindungskapazität in der Kontrollgruppe führt nicht zu einer signifikanten Differenz im Vergleich der Gruppen gegeneinander (Abschnitt 3.2.1.1, Abbildung 14). Für den Parotisspeichel wurden Veränderungen der Bindungsfähigkeit an AAA durch körperliche Belastung weder in der einen noch in der anderen Gruppe festgestellt, was sich mit dem Ergebnis des Vergleiches zwischen den Gruppen deckt (siehe im Abschnitt 3.2.1.1, Abbildung 12 und 13).

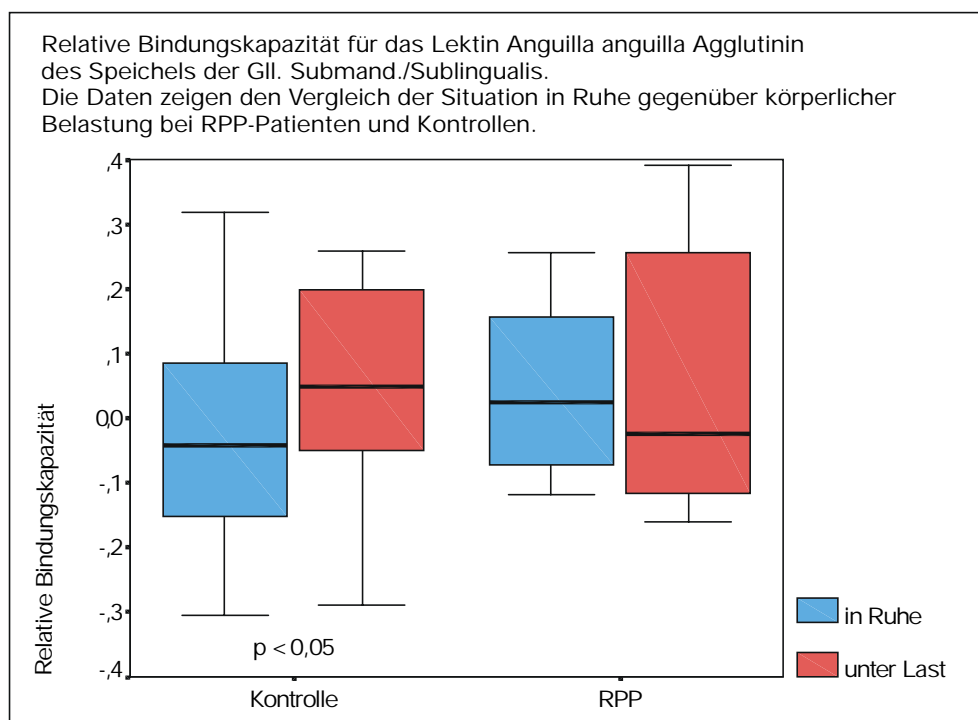


Abbildung 26: SPSS Grafik 17

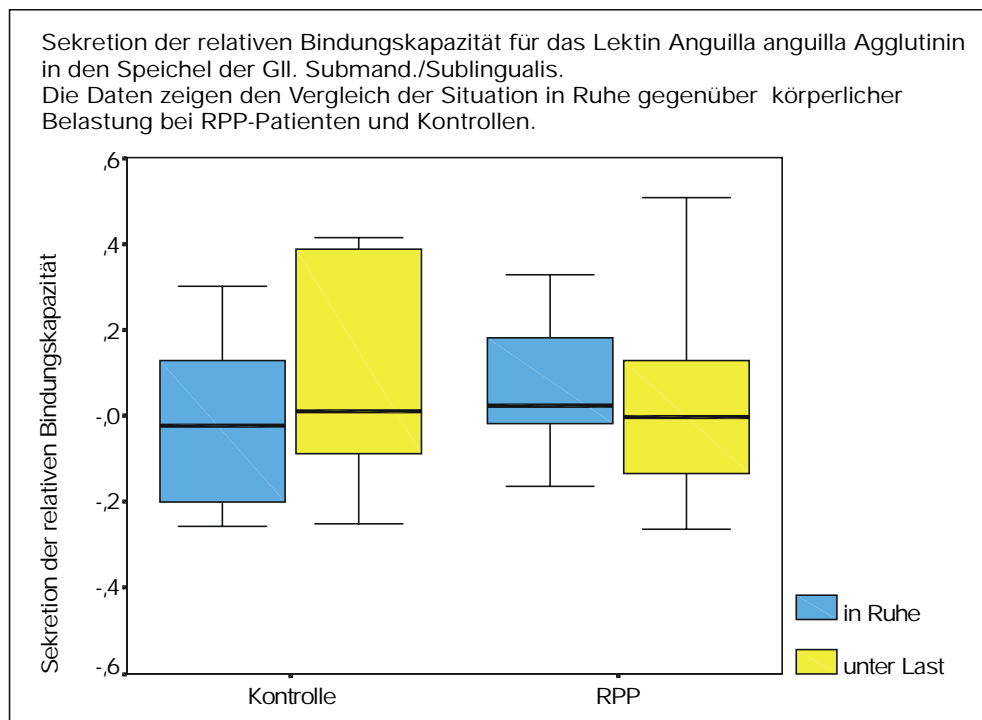


Abbildung 27: SPSS Grafik 18

### 3.2.2.2 Lektin Concanavalin A, spezifisch für Trimannosylstrukturen

Unter körperlicher Belastung steigt die relative Bindungskapazität des Parotispeichels der RPP-Patienten für dieses Lektin signifikant an, nicht dagegen in der Kontrollgruppe. Dies bestätigt das im Abschnitt 3.2.1.2 beschriebene Ergebnis, wonach unter Belastung eine signifikant höhere Bindungskapazität des Parotispeichels der RPP-Patienten gegenüber den Kontrollen besteht, nicht jedoch in Ruhe.

Dasselbe Verhalten zeigt sich in den berechneten Werten für die Sekretion der relativen Bindungskapazität. Die relative Bindungskapazität des Parotisspeichels für Concanavalin A korreliert mit der Aktivität des Glykosylierungsapparates bei dem Einbau von Trimannosylstrukturen in die Speichelglykane.

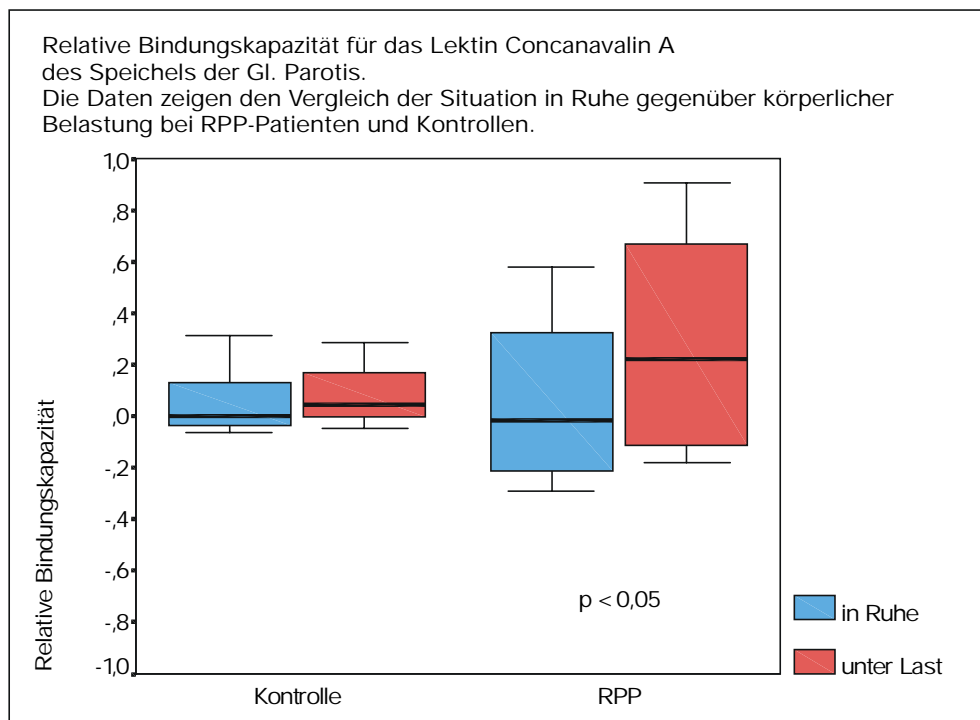


Abbildung 28: SPSS Grafik 19

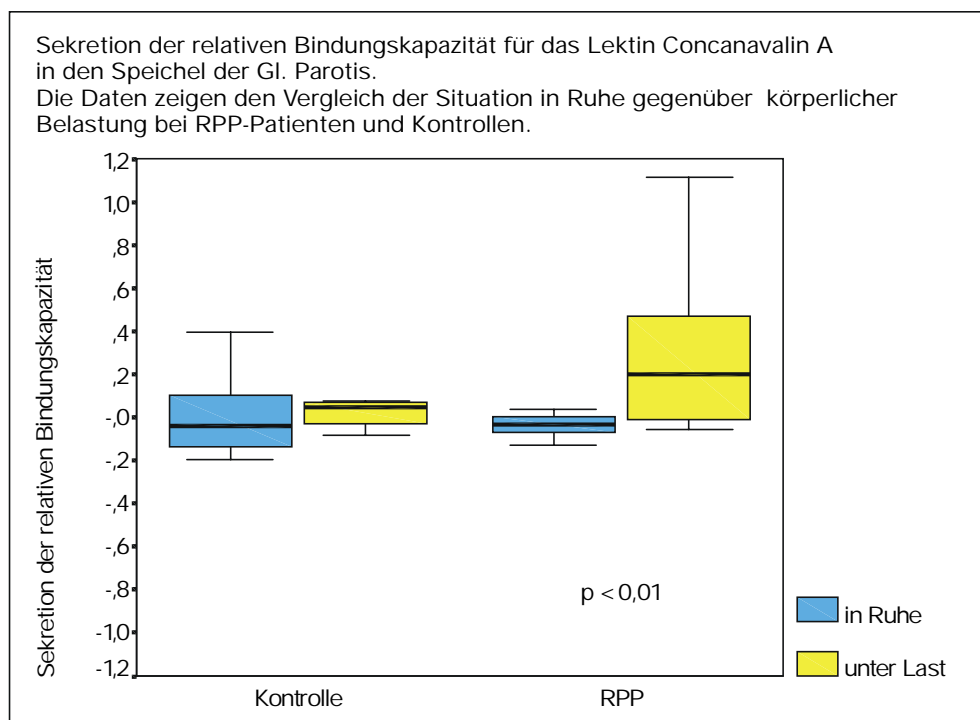


Abbildung 29: SPSS Grafik 20

In den Submandibular-/Sublingualdrüsen findet sich für keine der Gruppen eine signifikante Änderung vom Ruhezustand zur Situation unter körperlicher Belastung (keine Grafiken gezeigt). Die relative Bindungskapazität sowie die Sekretion der relativen Bindungskapazität liegen in Ruhe und während der Belastung bei der RPP-Gruppe signifikant über den Werten der Kontrollgruppe. Auch dies bestätigt die im Abschnitt 3.2.1.2 dargestellten Ergebnisse.

Um das unterschiedliche Niveau in der Bindungskapazität des Speichels und der Aktivität des Glykosylierungsapparates der Submandibular-/Sublingualdrüsen noch einmal zu verdeutlichen, sind die Medianwerte für die relative Konzentration und die relative Sekretionsrate in den zwei folgenden Balkengrafiken zusammengestellt.

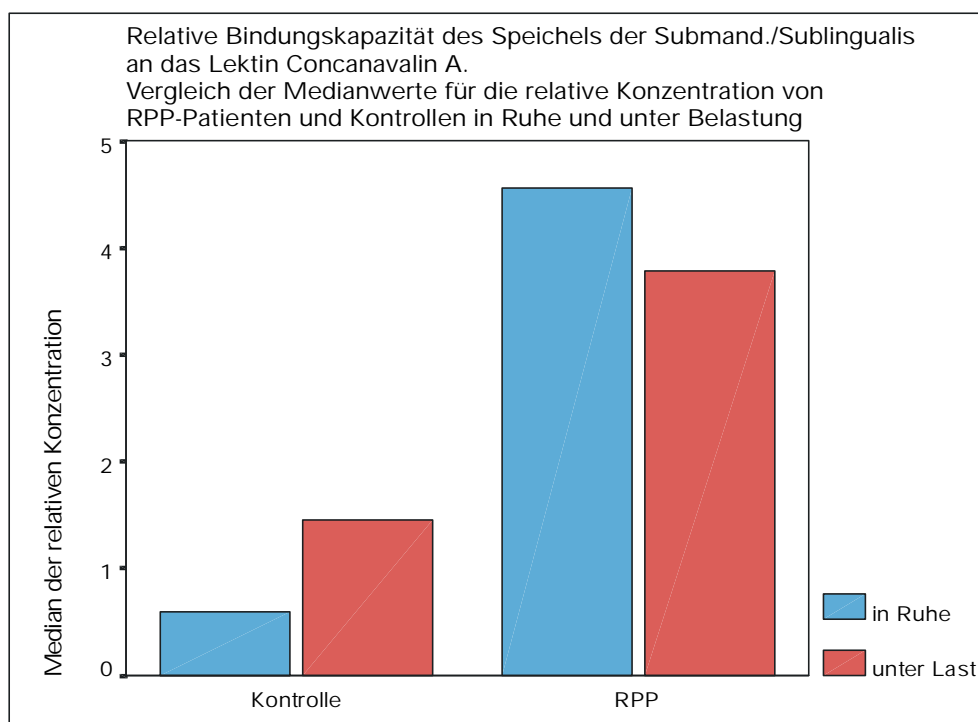


Abbildung 30: SPSS Grafik 21

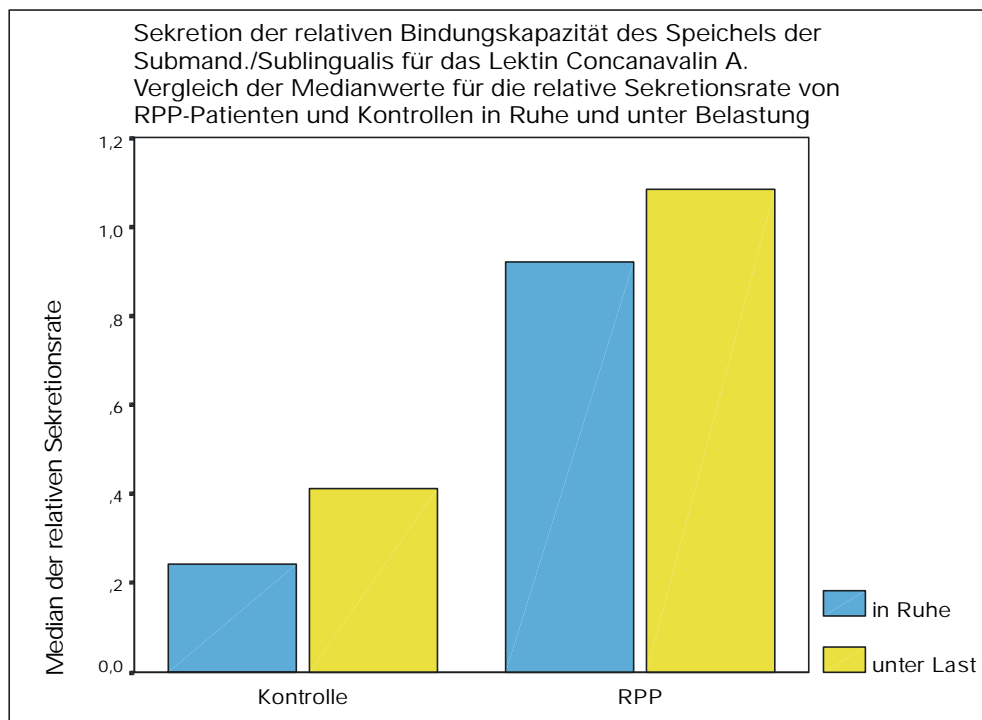


Abbildung 31: SPSS Grafik 22

### 3.2.2.3 Lektin *Galanthus nivalis* Agglutinin, spezifisch für endständige Mannosereste

Die relative Bindungskapazität an GNA erhöht sich unter adrenerger Stimulation signifikant im Parotisspeichel beider Gruppen (Abbildung 32). Dies geschieht soweit parallel, daß im Vergleich der Gruppen miteinander keine Unterschiede festzustellen sind (keine Grafiken gezeigt im Abschnitt 3.2.1.3).

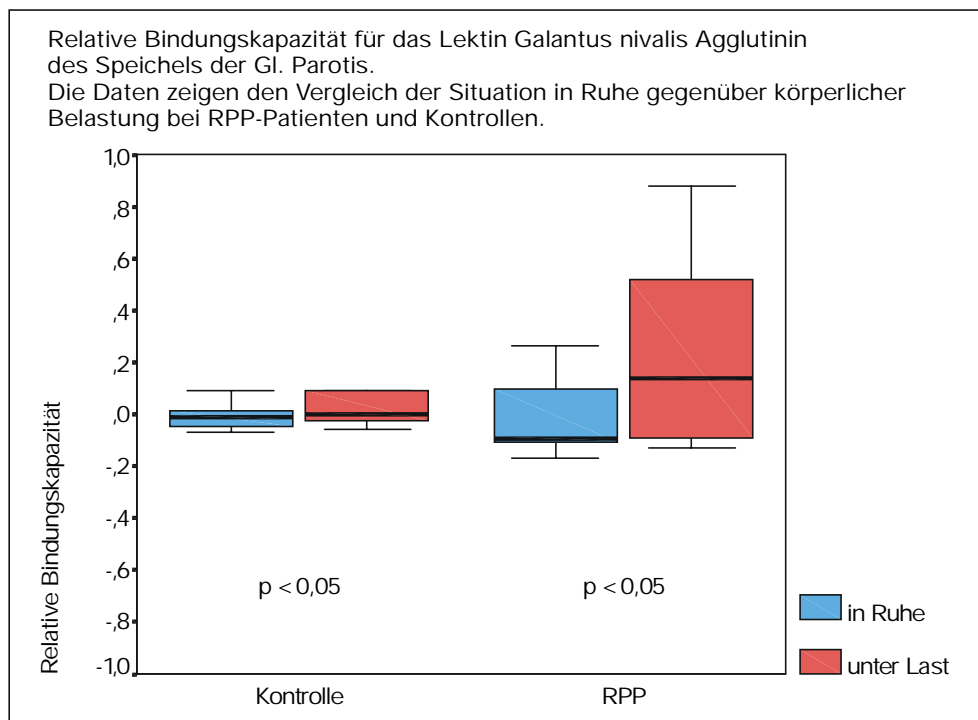


Abbildung 32: SPSS Grafik 23

Die Sekretion der relativen Bindungskapazität in den Parotisspeichel steigt nur bei den RPP-Patienten signifikant an. Dies führt jedoch nur tendenziell zu einer Differenz zwischen den Gruppen. Da der Unterschied nicht signifikant ist, werden im Abschnitt 3.2.1.3 keine Grafiken für diese Werte gezeigt. Es erscheint jedoch angebracht, die entsprechende Grafik an dieser Stelle zu zeigen. Obwohl statistisch nur eine Tendenz zu erkennen ist ( $p=0,0696$ ), springt die unterschiedliche Aktivität der Drüse bei dem Einbau von endständigen Mannoseresten zwischen RPP-Patienten und Kontrollen ins Auge.

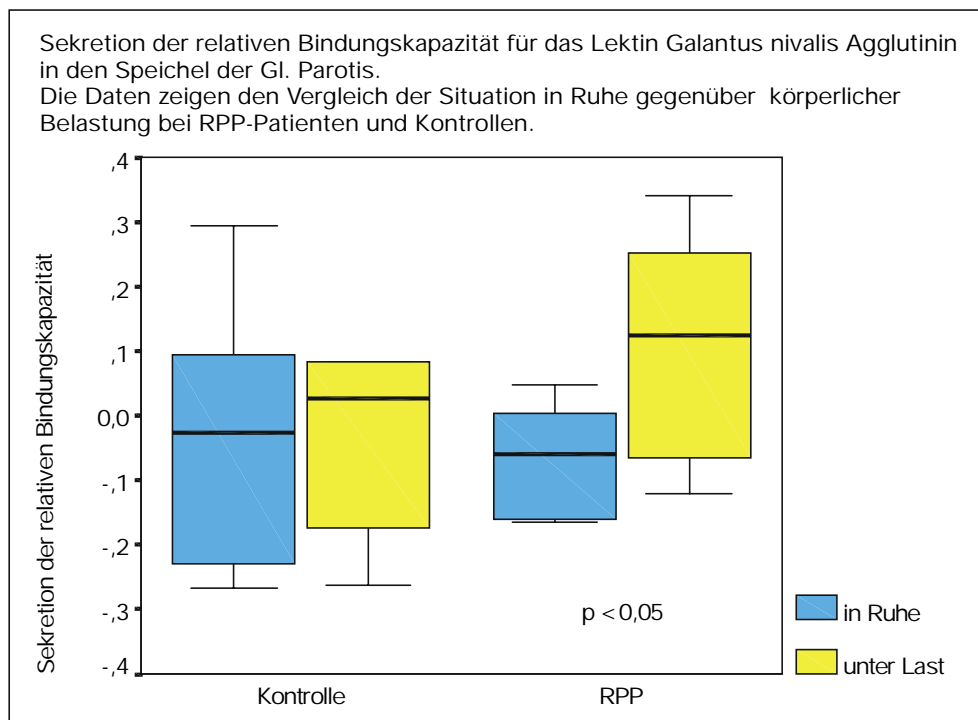


Abbildung 33: SPSS Grafik 24

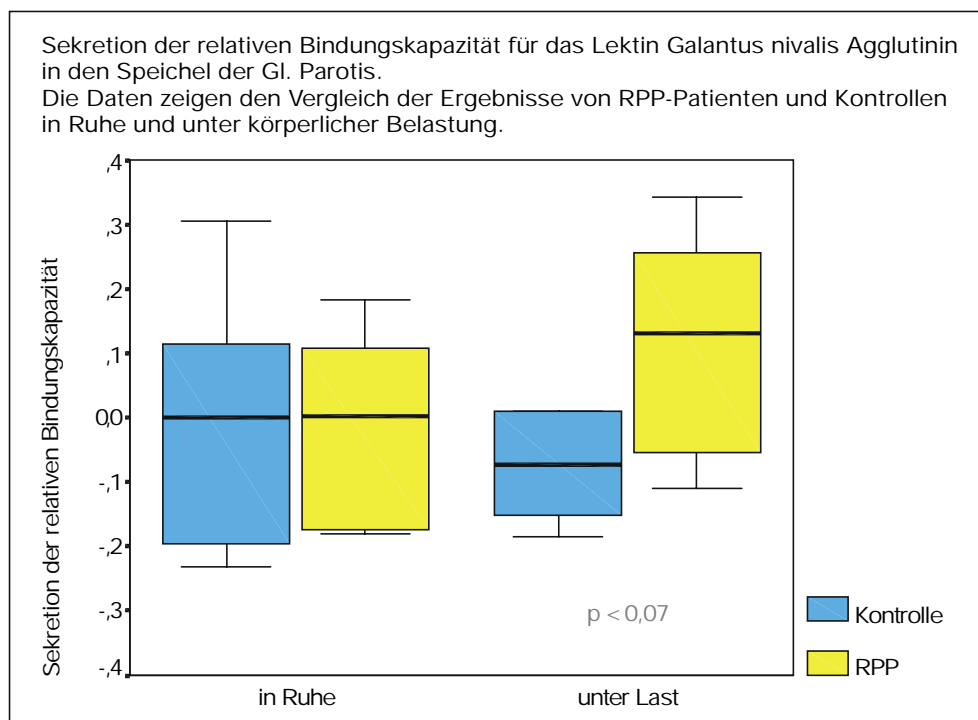


Abbildung 34: SPSS Grafik 25



Erst durch die Errechnung der relativen Sekretionsrate aus der relativen Konzentration und der Speichelmenge wird das Verhalten der Drüse deutlich, da die Konzentration allein diese Tendenz nicht aufweist ( $p=0,3643$ ) und auch die gewonnenen Speichelmengen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen erkennen lassen.

In den im Mundboden gelegenen Speicheldrüsen dagegen verhält sich die Konzentration GNA-bindender Kohlenhydrate unter körperlicher Belastung soweit parallel zur Situation in Ruhe, daß der Unterschied zwischen den Gruppen bestehen bleibt (siehe Abschnitt 3.2.1.3), aber keine signifikante Steigerung innerhalb der Gruppe unter Belastung stattfindet (keine Grafik gezeigt).

#### *3.2.2.4 Lektin Griffonia Simplicifolia Agglutinin, spezifisch für $\alpha$ -N-Acetyl-Galaktosamin bzw. terminale Galaktose*

Wie im Abschnitt 3.2.1.4 bereits erwähnt, sind für die Messung des Parotispeichels mit diesem Lektin nicht genügend verwertbare Daten entstanden. Die Bindungsfähigkeit des Speichels der Mundbodendrüsen an das Lektin GS1 verhält sich wie in der Untersuchung mit dem Lektin GNA. Ein signifikanter Unterschied besteht wohl zwischen den Gruppen, nicht aber innerhalb der Gruppen zwischen Ruhspeichel und adrenergem Reizzustand.

#### *3.2.2.5 Lektin Sambucus Nigra Agglutinin, spezifisch für terminale $\alpha$ -2,6 gebundene Sialinsäure*

Für die Parotis ergibt sich eine signifikante Steigerung der relativen Sekretionsrate in der RPP-Gruppe. Dies führt jedoch nicht zu einem Unterschied zwischen den Gruppen. Deshalb sind im Vergleich RPP mit Kontrollen (Abschnitt 3.2.1) für dieses Lektin keine Grafiken gezeigt.

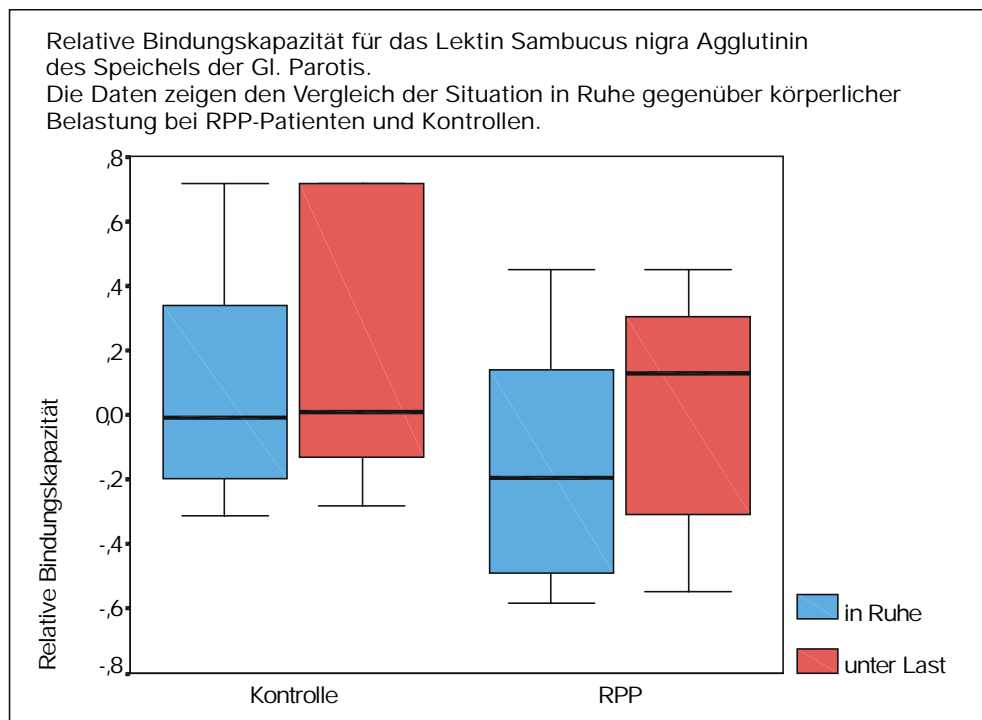


Abbildung 35: SPSS Grafik 26

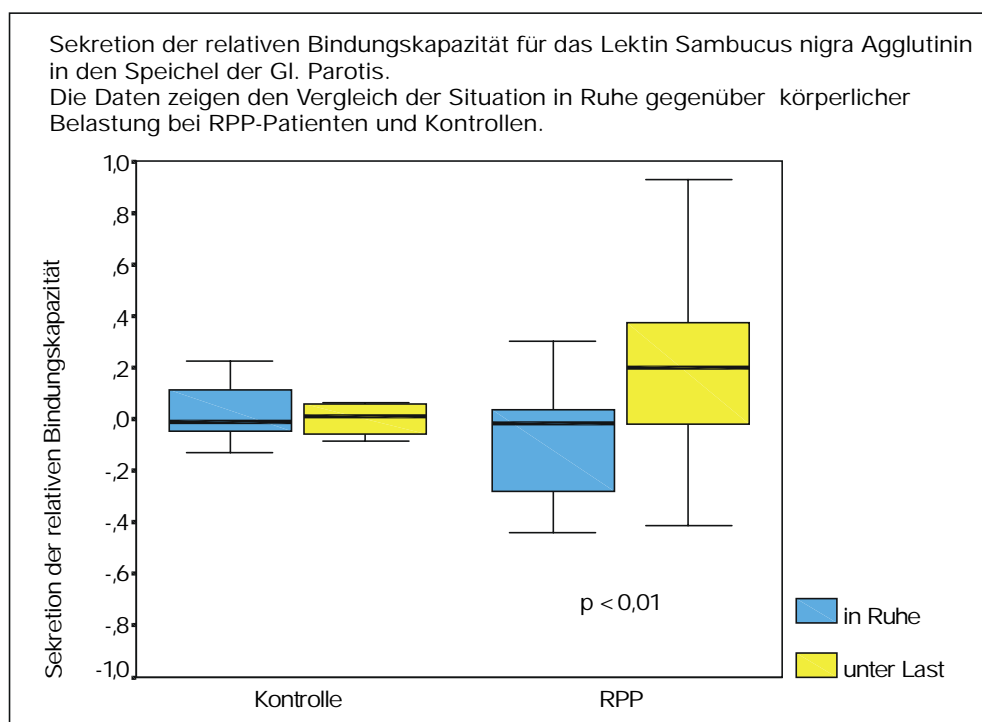


Abbildung 36: SPSS Grafik 27

### 3.2.2.6 Lektin Weizenkeim Agglutinin, spezifisch für 1,4 $\beta$ -D-N-Acetyl-glukosamin

In der Kontrollgruppe zeigt sich eine signifikante Steigerung der relativen Bindungskapazität an WGA im Parotisspeichel unter körperlicher Belastung. Die Sekretion der relativen Bindungskapazität steigt nicht gleichermaßen an, sie ist jedoch im Vergleich der Gruppen unter Belastung bei den RPP-Patienten signifikant höher als in der Kontrollgruppe (Abschnitt 3.2.1.5, Abbildung 25).

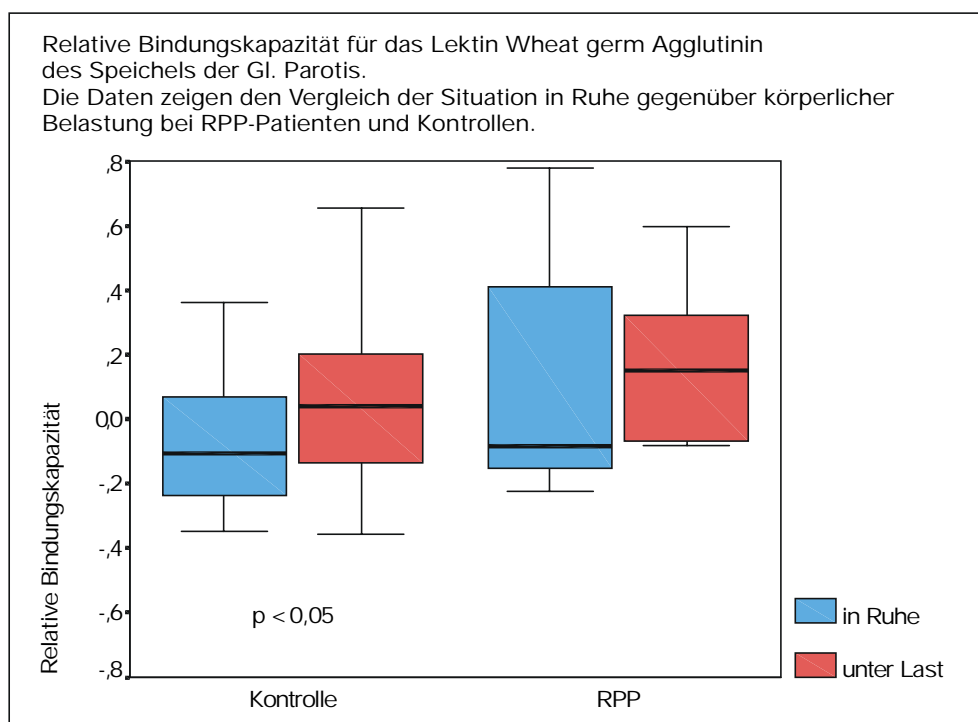


Abbildung 37: SPSS Grafik 28

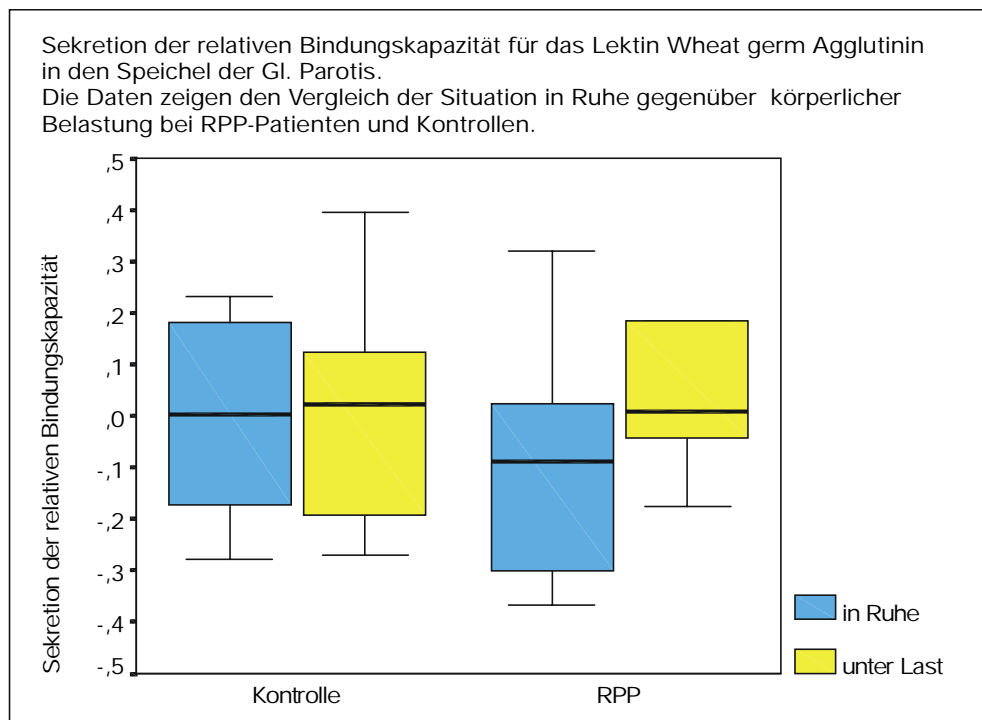


Abbildung 38: SPSS Grafik 29

In der nachfolgenden Diskussion werden die Ableitungen aus den Ergebnissen im Einzelnen besprochen, jeweils mit Hinweis auf den Abschnitt und die Abbildungsnummer der entsprechenden SPSS Grafik.

## 4 Diskussion

### 4.1 Grundlagen der Untersuchung

#### 4.1.1 Parodontitis als Modell

Seit dem Rückgang der Karies in den westlichen Industrienationen haben parodontale Erkrankungen für die Zahnmedizin an Bedeutung gewonnen (123). Dies schon allein aus dem Grund, daß Zähne seltener wegen kariöser Zerstörung extrahiert werden, somit länger im Munde verbleiben und einen Angriffspunkt für eine parodontale Erkrankung darstellen. Die Prävalenz parodontaler Destruktion nimmt mit zunehmendem Lebensalter stark zu (82). Die gestiegene durchschnittliche Lebenserwartung führt damit zusätzlich zu einem vermehrten klinischen Behandlungsbedarf solcher Läsionen.

Während in der Kariesepidemiologie schon seit den 30iger Jahren aussagekräftige Indizes wie der DMFT (Decayed Missing Filled Teeth) und der DMFS (Decayed Missing Filled Surfaces) bestehen und angewandt werden, wurden erst in den 50iger Jahren Indizes wie der PI (Periodontal Index) (125) und der PDI (Periodontal Disease Index) (122) entwickelt, die Aussagen über die Prävalenz von Parodontalerkrankungen zulassen. Bis dahin wurde parodontale Gesundheit ausschließlich nach den Kriterien „gut, mittel oder schlecht“ klassifiziert. Diese Einteilung war außerordentlich abhängig von Interesse und Ausbildung des Untersuchers, wodurch Prävalenzangaben z.B. für Gingivitis in vergleichbaren Populationen von 8 - 98% schwankten (88). Um die Prävalenz von Parodontalerkrankungen zu erfassen ist es sinnvoll, den Begriff der Krankheit in der Form zu definieren, daß eine tatsächliche Beeinträchtigung der Funktion des Gebisses bzw. der Verlust von Zähnen als realistische Folge der Krankheit anzusehen ist. Dies reduziert die betroffenen Individuen einer Population auf eine Minderheit im Gegensatz zu Prävalenzangaben von nahezu 100% bei Betrachtung jeglicher Entzündungszeichen als eine Form von parodontaler Erkrankung. Groß angelegte epidemiologische Studien in der Schweiz und den USA ergaben, daß nur 1,8

bzw. 0,6 % der Individuen einer repräsentativen Bevölkerungsgruppe mindestens eine Zahnfleischtasche von 7 mm oder mehr aufweisen (81). Da es sowohl Fälle von anhaltender Gingivitis ohne die Entwicklung von Taschen und/oder Attachmentverlust sowie Verlust von Zahnhalteapparat ohne eine offensichtliche Gingivitis gibt, ist es ein konzeptioneller Fehler, Gingivitis als eine Frühform oder milde Form von Parodontitis anzusehen (59). Im Interesse der Patienten und auch aus wirtschaftlichen Erwägungen ist es sinnvoll, sich in der Forschung vor allem mit den Fällen zu befassen, die durch ihren fulminanten Verlauf Einfluß auf die Lebensqualität der betroffenen Individuen nehmen und umfangreiche Therapiemaßnahmen mit aufwendigen Rekonstruktionen des Gebisses erforderlich machen.

Während Ätiologie und Pathogenese der Karies weitgehend geklärt sind und prophylaktische Maßnahmen, die Eingang in die staatliche Gesundheitsfürsorge gefunden haben, zu dem oben erwähnten Rückgang der Karies in den Industrienationen geführt haben, ist dies bei den parodontalen Erkrankungen nicht der Fall. Obwohl beide Erkrankungen von Bakterien ausgelöst werden, haben die bis jetzt existierenden prophylaktischen Maßnahmen und die Aufklärung der Bevölkerung über Mundhygiene auf die Prävalenz der Parodontalerkrankungen nicht den selben Effekt, wie auf die Prävalenz von Karies. Weder sind die Erreger der Parodontitis und die in Frage kommenden Pathogenitätsfaktoren bisher genügend eingegrenzt, noch sind die Mechanismen der Infektion und beteiligte Wirtsfaktoren bekannt. Es bedarf weiterer intensiver Forschung, um diese Punkte aufzuklären und damit von der rein symptomatischen Therapie zur Erkennung von Risikogruppen und prophylaktischen Maßnahmen zu kommen. Für die Erforschung von Risikofaktoren eignet sich jedoch nicht jede Form der Parodontitis gleich gut.

#### 4.1.2 Auswahl der Probandengruppe

In Ermangelung anderer sicherer Unterscheidungsmerkmale werden die Parodontopathien klinisch vor allem nach ihrem Auftreten im Lebensalter des

betroffenen Individuums und der Geschwindigkeit ihres destruktiven Verlaufes eingeteilt. Dabei wird nicht die aktuelle Aktivität der Krankheit erfaßt, sondern die in der Vergangenheit entstandenen Destruktionen werden beurteilt (25).

#### *4.1.2.1 Präpubertäre Parodontitis*

Die präpubertäre Parodontitis setzt mit dem Durchbruch der Milchzähne ein. Sie tritt lokalisiert oder generalisiert auf und ist extrem selten. Diese Form kann meistens als Teil eines Krankheitssyndroms (Papillon-Lefevre-S., Chediak-Steinbrinck-Higashi-S.) angesehen werden und scheint bei generalisiertem Befall des Gebisses therapierefraktär zu sein (82).

#### *4.1.2.2 Juvenile Parodontitis*

Die juvenile Parodontitis tritt zuerst während der Pubertät auf und ist bei einem Befall von 0,06 bis 0,36 % aller Jugendlichen ebenfalls selten (13, 127). Mädchen sind etwa zweimal so häufig betroffen wie Jungen (95, 128). Klassischerweise zeigt die juvenile Parodontitis einen schnellen Knochenabbau an den bleibenden mittleren Schneidezähnen und den 6-Jahrmolaren. Sie kann bei spätem Erkennen eine disseminiertere Ausprägung annehmen. Das klinische Bild der betroffenen Parodontien ist häufig unauffällig und von geringen Plaquemengen begleitet (6).

#### *4.1.2.3 Erwachsenenparodontitis*

Die bei weitem häufigste Form (ca. 95% aller parodontal Erkrankter) der Parodontitis ist die AP (Adult Periodontitis), die im Erwachsenenalter ca. ab dem 35. Lebensjahr auftritt und wie die anderen Formen schubweise, jedoch vergleichsweise langsam verläuft. Sie befällt alle Zähne mit besonderer Bevorzugung der Molaren. Sie führt erst in höherem Lebensalter oder überhaupt nicht zu Zahnverlust (123). Eine rein instrumentelle Therapie durch Scaling und anschließende Plaquekontrolle ist in diesen Fällen fast immer erfolgreich (5). Es gibt jedoch auch bei dieser Form therapierefraktäre Fälle, bei denen trotz guter häuslicher Mundhygiene und professioneller Nachsorge generalisiert kein Behandlungserfolg zu

verzeichnen ist. Als therapierefraktärer Fall wird nicht der mangelnde Therapieerfolg an einzelnen Zahnfleischtaschen bezeichnet, die auf die konservative Therapie nicht ansprechen und weiterhin fortschreitenden Attachmentverlust zeigen. Der Grund für letzteren liegt meistens in der anatomischen Gegebenheit der Läsion (Destruktion von mehr als 40% des Parodonts, Furkationsbeteiligung), die eine adäquate Behandlung und/oder Nachsorge erschweren oder verhindern. Es handelt sich bei den als therapierefraktär bezeichneten Patienten um Individuen, die fortschreitende Destruktionen sowohl an Zähnen ohne problematische anatomische Verhältnisse und trotz adäquater Therapie, als auch das Auftreten neuer Läsionen ohne erkennbare (plaquebedingte) Ursache zeigen (72). Die große Mehrheit der fortschreitenden Läsionen findet sich in einer sehr kleinen Patientengruppe (87)

Die Form der parodontalen Erkrankung eines Individuums scheint eine Funktion genetischer Prädisposition und/oder andauernder Veränderung der Wirtsantwort auf eine bakterielle Besiedelung zu sein. Veränderungen der Wirtsantwort können sowohl durch endogene Faktoren wie z.B. Diabetes oder durch exogene Faktoren hervorgerufen werden wie Rauchen oder fortgesetzter Streß (72). Über genetisch bedingte Wirtsfaktoren bei der Erwachsenenparodontitis ist weit weniger bekannt als für andere Parodontopathien (siehe unter 1.1.2), obwohl Zwillingsstudien diese auch hier bejahen (109).

#### *4.1.2.4 Rasch fortschreitende Parodontitis*

Die bei Erwachsenen auftretende RPP (Rapidly Progressive Periodontitis) wird erstmals von Page und Schroeder als eigene Entität aufgefaßt (108). Die Häufigkeit dieser Form der Parodontitis wird mit 2 - 5 % der Parodontalerkrankungen angegeben (123). Sie ist jedoch für den parodontologisch tätigen Zahnarzt von besonderem Interesse, da sie hohe Anforderungen an Diagnostik und Therapie stellt.

Die Erkrankung setzt zwischen dem 20. und 35. Lebensjahr ein und führt in kurzer Zeit zu tiefen Knochendestruktionen, die ohne festes Muster über das



gesamte Gebiß verteilt auftreten. Das klinische Bild ist von lokalen hochakuten, häufig schmerzhaften Entzündungen geprägt, während andere Parodontien trotz erheblicher Taschentiefen von 10 mm und mehr zur selben Zeit entzündungsfrei sind. Die aktiven Läsionen reagieren auf Sondierung mit profuser Blutung und die entzündungsbedingten Gingivaproliferationen werden mit einem maulbeerartigen Aussehen beschrieben. Extremer Knochenverlust kann in wenigen Wochen auftreten. Dieser führt zu tiefen vertikalen Einbrüchen mit häufiger Furkationsbeteiligung (131). Der rapide Verlauf kann ohne erkennbare Ursache plötzlich zum Stillstand kommen, um nach einer nicht vorhersehbareren Zeitspanne des subakuten Verlaufes erneut auszubrechen. Die tatsächliche Geschwindigkeit des Knochenabbaus läßt sich deshalb bei der klinischen Diagnose nicht einschätzen. Der Gesamtverlust an parodontalem Attachment in Beziehung zum Lebensalter des Patienten sowie die ungleichmäßige Verteilung der Läsionen dienen als Parameter für die Einordnung eines Falles in diese Entität. In manchen der Fälle könnte eine juvenile Parodontitis vorausgegangen sein. Die Beziehungen der letzteren zur rasch fortschreitenden Form sind nicht geklärt (107). Besonders bei dieser Form der Parodontitis scheinen nach Angabe vieler Kliniker akute Schübe häufig mit Phasen subjektiv empfundenen Stresses der Betroffenen assoziiert zu sein. Möglicherweise werden unter Streß Wirtsfaktoren modifiziert, die parodontalpathogenen Bakterien besonders günstige Entfaltungsmöglichkeiten bieten. Bei den betroffenen Individuen kommt es schon in mittlerem Lebensalter, in manchen Fällen bereits vor dem 25. Lebensjahr, zu extremen Destruktionen im Zahnhalteapparat. Trotz der Zahnlockerung streben die Patienten sehr häufig erst bei offensichtlich drohendem oder tatsächlichem Verlust von Zähnen eine Therapie an. Die von Page beschriebenen schmerzhaften Exazerbationen treten erst in fortgeschrittenem Stadium der Erkrankung auf, wenn ein Abfließen des entstehenden Pus aus der Tiefe des Sulkus gingivalis nicht ohne weiteres möglich ist. Der schmerzhafte Zustand hält dabei nur relativ kurze Zeit an, meist einige Stunden bis zu zwei Tagen, bis sich der Pus einen Weg in die Mundhöhle gebahnt hat. Ein klinisch häufig zu beobachtendes Merkmal in fortgeschrittenem Stadium

ist die lückige Protrusion der Oberkieferfrontzähne. Neben dem Zahnverlust ist die Therapie mit weiteren Einbußen in der Ästhetik verbunden. Das Abklingen der Entzündung und operative Maßnahmen zur Reduktion der Taschentiefe gehen mit einer Schrumpfung der Gingiva und der optischen Verlängerung der Zähne einher. In der rekonstruktiven Phase wird in der Mehrzahl der Fälle eine aufwendige prothetische Versorgung nötig, an die sich ein enges Recall zur Früherkennung und Vermeidung von Rezidiven anschließen muß.

Der hohe Aufwand, den die Therapie der RPP erfordert, ist nicht zuletzt aus wirtschaftlichen Gründen von Bedeutung. Um eine kosteneffektive und wissenschaftlich sinnvolle Präventions- und Behandlungsstrategie zu entwickeln ist es nötig, Methoden zu Erkennung von Gruppen und Individuen mit einem hohen Risiko für die Erkrankung zu finden (59).

Die rasch fortschreitende Parodontitis ist die zweithäufigste Parodontalerkrankung, weshalb in einer überschaubaren Population genügend Fälle für wissenschaftliche Untersuchungen zur Verfügung stehen. Während man in fortgeschrittenem Lebensalter nur sehr wenige Menschen ohne jeglichen Verlust an Zahnhalteapparat findet, ist in der für die RPP typischen Altersgruppe das Gebiß ohne Attachmentverlust noch häufig anzutreffen. Dadurch lassen sich betroffene Individuen deutlich selektieren und einer Kontrollgruppe parodontal gesunder Probanden gegenüberstellen. Die RPP tritt ohne systemische Grunderkrankung wie AIDS, Diabetes mellitus oder Trisomie auf und obwohl die bakterielle Pathogenese als gesichert gelten kann, ist sie nicht notwendigerweise mit extremen Mengen dentaler Plaque assoziiert (107). Die als parodontalpathogen vermuteten Spezies finden sich nicht nur in den aktiven Läsionen, sondern auch, wenngleich in geringerer Anzahl, in nicht aktiven Taschen und in der Mikroflora gesunder Individuen (160). Diese Merkmale lassen die RPP als geeignete klinische Entität für die Untersuchung eines glykoproteinvermittelten Schutzsystems gegen bakterielle Invasion erscheinen.

Die Auswahl der zu untersuchenden Patienten geschah nach den von Page und Schroeder entwickelten klinischen Kriterien (108), um aus einem umfangreichen

Patientengut mit größtmöglicher Sicherheit Probanden zu selektieren, deren Parodontalerkrankung in der Klassifikation nicht einer anderen Gruppe zugeordnet werden kann:

1. Der Beginn der Erkrankung liegt zwischen der Pubertät und etwa dem Alter von 35 Jahren.
2. Die Läsionen sind generalisiert vorhanden, betreffen die meisten Zähne und folgen keinem festen Verteilungsmuster.
3. Schwere und schnelle Knochendestruktion ist nachweisbar, nach der der destruktive Prozess aufhören oder sich stark verlangsamen kann.
4. Während der aktiven Phase ist das gingivale Gewebe akut entzündet und zeigt marginale Proliferationen. In den subakuten Phasen können die Gewebe entzündungsfrei erscheinen.
5. Die Menge der mikrobiellen Ablagerungen ist höchst unterschiedlich.

Als Ausschlußkriterien sind die genannten Merkmale jedoch nicht geeignet, da nicht jedes einzelne auf jeden der Fälle zutreffen muß und die Kriterien selbst eine große Bandbreite der klinischen Erscheinung beschreiben. Somit bleibt für den Untersucher ein Ermessensspielraum, den er nur auf Grund seiner Erfahrung auszufüllen in der Lage ist. Um die Subjektivität bei der Einschätzung durch den Untersucher möglichst gering zu halten, wurde das deutlichste klinische Kriterium, die vorhandene Destruktion des Parodonts in Verbindung mit dem Lebensalter, von uns in einen engen Rahmen gefaßt. Es wurden nur Patienten in der Studie belassen, die mindestens 5 Zahnfleischtaschen mit einer Taschentiefe von 6 mm und mehr verteilt auf mindestens drei Gebißquadranten aufwiesen. Die Läsionen durften nicht im Zusammenhang mit prothetischen Versorgungen oder insuffizienten Füllungen stehen. Eine weitere Forderung war, daß jeder Proband zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung mindestens eine Läsion in aktivem Zustand aufzuweisen hatte, d.h. entzündliche marginale Proliferation mit der

typischen bläulich lividen Verfärbung und profuser Blutung auf vorsichtige Sondierung. Diese Forderung war leicht zu erfüllen, da alle in die Studie aufgenommenen Patienten die Klinik wegen solcher akuten Probleme aufsuchten. Die allgemeinmedizinische Anamnese durfte keine akuten Erkrankungen aufweisen und in den drei Monaten vor der Untersuchung durfte keine Behandlung mit Antibiotika erfolgt sein. Dies sollte sicherstellen, daß die Parodontitis oder ihre akute Exazerbation nicht als Begleiterscheinung einer systemischen Erkrankung anzusehen sein konnte oder durch eine Antibiotikabehandlung eine Selektion von Keimen in der Mundhöhle stattgefunden haben konnte.

Zu jedem RPP-Patienten wurde eine Kontrollperson streng nach Alter und Geschlecht ausgesucht, um eine möglichst weitgehende Vergleichbarkeit der Gruppen zu gewährleisten. Die Gruppe der Kontrollpersonen hatte von jeglichem Attachmentverlust frei zu sein, so daß auch eine eventuell vorhandene, zum Untersuchungszeitpunkt jedoch nicht aktive, Parodontalerkrankung ausgeschlossen war. Die Anforderungen an die allgemeine Anamnese und eventuell vorausgegangene Behandlung mit Antibiotika waren die gleichen wie in der RPP-Gruppe.

Zahlreiche Studien belegen, daß Nikotinabusus ein erheblicher Risikofaktor für die Entwicklung einer Parodontitis ist und die Erfolgsaussichten einer Therapie ausgesprochen negativ beeinflusst (55, 65, 97, 110, 150, 163). Deshalb wurde bei der Auswahl der Kontrollpersonen auch das Verhalten der Probanden in Bezug auf Nikotinkonsum berücksichtigt, d.h. den 10 Nichtrauchern unter den RPP-Patienten der Studie wurden nur ebensolche Kontrollen gegenübergestellt. Auf diese Weise entstanden zwei vergleichbare Gruppen, die in Bezug auf den Zustand ihres Zahnhalteapparates jeweils ein Extremum darstellten.

#### 4.1.3 Speichel als Medium

Die Ausbildung des pathologischen Zustandes ist mit Sicherheit ein multifaktorielles Geschehen. Bei Vorhandensein der parodontalpathogenen Keime

müssen weitere Faktoren hinzukommen, die diesen Keimen die Entfaltung Ihrer pathogenen Wirkung ermöglichen.

Vor jeder immunologischen Reaktion des Wirtes auf eine bakterielle Invasion steht die Überlebensfähigkeit der Bakterien im oralen Milieu (138). Dem Speichel kommt bei der Beeinflussung des Milieus eine Schlüsselrolle zu (71). Grundlegende Voraussetzung für die Besetzung einer ökologischen Nische ist, daß die in Frage kommenden Keime an oralen Oberflächen adhärieren können und nicht im luminalen Strom hinweggeschwemmt werden. Die Adhäsion von Bakterien hängt weitgehend davon ab, ob ihre Oberflächenlektine auf für sie spezifische Rezeptoren stoßen. Diese Rezeptoren müssen an der Zieloberfläche gebunden sein. Sind sie frei im Medium vorhanden, besetzen sie die Lektine und verhindern eine Adhäsion des Keims an der Zieloberfläche (10). Die adhäsionsfördernde und die antiadhäsive Wirkung der Speichelbestandteile liegen eng beieinander. In einer Testreihe mit verschiedenen Speichelskonzentrationen, die im Zusammenhang mit einer anderen Arbeit von unserer Arbeitsgruppe durchgeführt wurde, zeigte sich, daß mit zunehmender Konzentration zuerst die adhäsionsfördernde Wirkung des Speichels zunahm. Ab einer bestimmten Konzentration jedoch setzte eine Adhäsionshemmung ein, die sich bei weiterer Konzentrationssteigerung verstärkte (132). Verschiedene Konzentrationen können daher nicht ohne weiteres linear mit der Schutzwirkung korreliert werden. Es bedarf zusätzlicher Forschung, das Verhalten einzelner Bakterienspezies auf verschiedene Rezeptorkonzentrationen für ihre Lektine zu bestimmen.

Die Expression bestimmter Kohlenhydratsequenzen in Glykoproteinen und Glykolipiden auf den Zelloberflächen ist genetisch determiniert (wie z.B. die Blutgruppenantigene). Dieselben Strukturen finden sich auch in den Drüsensekreten. Die antiadhäsive Potenz des Speichels in Form gelöster Lektinrezeptoren stellt daher die erste Barriere dar, die parodontalpathogene Keime zu überwinden haben, bevor sie an ihre Rezeptoren auf Zelloberflächen oder dem Pellikel gelangen können. Interindividuelle Unterschiede in der Kohlenhydratstruktur sezernierter Glykane sind ein Selektionsmechanismus, der Einfluß auf die Zu-

sammensetzung der oralen Mikroflora nimmt (40, 58). Dabei unterliegt das Mengenverteilungsmuster der sezernierten Glykanstrukturen einer neurotransmittergesteuerten Regulation.

Hier könnte eingewendet werden, daß unter dem Aspekt der begrenzten Lokalisation der Parodontalerkrankung auf den Sulcus Gingivalis und die darunter liegenden Gewebe nicht der Speichel, sondern vielmehr das Sulcusexsudat einen selektierenden Einfluß auf die Mikroflora hat. Dies kann insofern relativiert werden, als jegliche Adhäsion von Bakterien vor dem Kontakt mit der Sulcusregion den Milieufaktoren des Speichels ausgesetzt ist (38).

Die initiale Besiedelung der Zahnoberfläche wird von der Zusammensetzung des Pellikels beeinflusst, das sich zum großen Teil aus Speichelbestandteilen bildet (85). Die weitere Plaquebildung beruht vor allem auf der Aggregation hinzukommender Spezies auf die vorhandene Plaque, die wiederum im Medium Speichel stattfindet und von diesem beeinflusst wird (69, 70). Während auf der Zahnoberfläche das Wachstum von Plaque zu massiven bakteriellen Ansammlungen führt, wird dies durch ständige Desquamation auf der Schleimhaut verhindert (38). Am Sulkus gingivalis kommt die Schleimhaut mit der bakteriellen Besiedelung der Zahnoberfläche in Kontakt, die nicht den Abwehrmechanismen der Mukosa unterliegt. Insbesondere die späten Besiedeler der Zahnoberfläche, zu denen die gramnegativen und damit die parodontalpathogenen Bakterien gehören, können hierdurch Einfluß auf die angrenzende Mukosa ausüben. Auf einer ständig desquamierenden Oberfläche hätten sie kaum die Chance zur Besiedelung. In diesem späteren Stadium gewinnt sicherlich das Sulcusexsudat einen stärkeren Einfluß auf die Standortflora. Bei der im Aufbau befindlichen Plaque und insbesondere der Infektion mit exogenen Keimen aber besitzt der Speichel die größere selektive Potenz.

Die Frage der Infektiosität von Parodontalerkrankungen, sei sie endogener oder exogener Natur, bedarf weiterer Klärung (136). Für *Porphyromonas gingivalis* und *Actinobacillus actinomycetemcomitans* deuten Untersuchungen des genetischen Fingerabdrucks auf eine Übertragbarkeit der Erreger hin (113, 114, 155).

Es steht bis heute nicht fest, welcher Keim oder welche Kombination von Keimen bei dem befallenen Organismus den hochgradig entzündlichen Abbau des Zahnhalteapparates, der schließlich zum Verlust des Zahnes führt, auslöst. In jedem Falle ist das „Herauseitern“ des Zahnes (108) als Abwehrmaßnahme gegen eine Infektion durch die Elimination der Eintrittspforte anzusehen. Es wird sich vorerst nicht klären lassen, ob nicht eine oder mehrere exogen erworbene Spezies als Auslöser für die Erkrankung angesehen werden müssen, die in einer etablierten Plaque ihre optimale Lebensgrundlage und die Möglichkeit zur Ausprägung ihrer Pathogenitätsfaktoren finden. Solche exogen erworbenen Keime sind zu allererst dem Speichel als Medium und damit einem individuellen Selektionsmechanismus ausgeliefert. Anhand der gebildeten Probandengruppen sollte untersucht werden, ob hinsichtlich der Sekretion von Kohlenhydratstrukturen im Speichel Unterschiede bestehen, die Einfluß auf die Zusammensetzung der oralen Mikroflora haben können.

#### 4.1.4 Gewinnung der Speichelproben

Die Gewinnung von Speichelproben kann auf verschiedene Weise geschehen. Primär ist dabei zu unterscheiden zwischen stimuliertem und unstimuliertem Speichelfluß. Dabei ist allerdings anzumerken, daß es mehr oder weniger unmöglich erscheint, wahrhaft unstimulierten Speichel zu entnehmen, da der Speichelfluß immer irgend einer Art von Stimulation unterliegt (68). Um für eine Untersuchung ausreichende Probenmengen zu gewinnen, ist es notwendig, den Speichelfluß in geeigneter Weise zu stimulieren. Zur nichtinvasiven Stimulation des Speichelflusses können die mastikatorische und die gustatorische Methode eingesetzt werden. Bei ersterer wird dem Probanden ein standardisiertes Stück Paraffin zum Kauen gegeben. Nach anfänglichem zweiminütigem Kauen wird der Mund von Speichel entleert und danach unter fortgesetztem Kauen der Speichel für eine definierte Zeitspanne durch zwischenzeitliches Ausspucken gesammelt. Die gustatorische Methode verwendet 1 - 6%ige Zitronensäure, die in standardisierter Menge in festen Intervallen auf die Zunge getropft wird. Jeweils vor

Applikation einer erneuten Dosis der Säure wird der Proband aufgefordert auszuspuken. Salz und Zucker sind ebenfalls zur Anwendung gekommen. Für die Gewinnung von Gesamtspeichel sind beide Methoden geeignet.

Für die Erforschung der Speicheldrüsenbiochemie ist jedoch das Sammeln von nach Drüsen getrennten Speichelproben erforderlich, die vom Mundmilieu (Enzymen anderer Herkunft, Bakterien und deren Zerfallsprodukten) unbeeinflusst sind, um nach der Sekretion stattfindende Modifikationen und Verunreinigungen zu verhindern. Nur dann können Unterschiede im Sekret wie auch der mengenmäßige Beitrag der einzelnen Drüsen zur Mundflüssigkeit untersucht werden. Um nach Herkunft aus den verschiedenen Drüsen getrennten Speichel zu entnehmen, müssen relativ aufwendige Apparaturen verwendet werden. Das Kauen zur Stimulation des Speichelflusses während der Entnahmeprozedur sollte dabei unterbleiben, um den sicheren Sitz der Apparatur nicht zu gefährden.

Die Gewinnung von reinem Parotissekret konnte schon 1910 von Carlson und Crittenden verwirklicht werden (20). Eine ähnliche, 1916 von Lashley (83) beschriebene Apparatur ist mit geringen Modifikationen noch heute gebräuchlich. Der Kollektor besteht aus zwei konzentrischen Hohlräumen in einer flachen Metall- oder Kunststoffschale. Der innere Hohlraum ist über einen Schlauch mit dem Sammelbehälter verbunden und wird auf das Ostium des Stenon'schen Ganges plziert. Der äußere Hohlraum hält vermittels applizierten Unterdrucks den Kollektor an der Wangenschleimhaut fest.

Die Gewinnung von Submandibularis-/Sublingualissekret bereitet aus anatomischen Gründen größere Probleme. 1955 wurde von Schneyer (130) eine Weiterentwicklung des „Segregators“ von Pickerill (116) vorgestellt, die es ermöglichen sollte, die Sekrete der Gl. submandibularis und der Gl. sublingualis getrennt aufzunehmen. Der Kollektor mußte für jeden Probanden individuell angefertigt werden, um der anatomischen Schwankungsbreite Rechnung zu tragen. Daß es durch Unterteilung der Kammern tatsächlich gelingt, die Sekrete der beiden Drüsen zu trennen, darf allerdings bezweifelt werden. Individuelle anatomische



Verhältnisse sorgen teilweise schon vor Austritt der Sekrete in die Mundhöhle für eine Mischung und die Ostien der Dukti liegen häufig sehr dicht beieinander. Schneyers Apparatur wurde häufig zur Grundlage von Weiterentwicklungen, die einen besseren Halt im Mundboden (159), die universelle Einsatzfähigkeit desselben Kollektors bei einer größeren Probandenzahl (151) oder die Reduzierung der Störanfälligkeit durch Schluckbewegungen (140) zum Ziel hatten. Seit 1986 ist eine kommerziell hergestellte Anlage für die Gewinnung von Mundbodensekreten erhältlich, die durch bewegliche Teile den individuellen anatomischen Gegebenheiten angepaßt werden kann (23). Von einer Trennung des Sekretes der Gl. submandibularis von dem der Gl. sublingualis ist dabei nicht mehr die Rede.

Um Speichelproben mit den für diese Untersuchung notwendigen Eigenschaften zu erhalten, sollte der Speichel gleichzeitig nach Drüsen getrennt und möglichst vollständig über einen längeren Zeitraum gesammelt werden, ohne dabei in Kontakt mit dem Mundmilieu zu gelangen. Auf Grund vorausgegangener Untersuchungen an unserem Institut (63) und den Ergebnissen von Kousvelari, Baum und Benerjee (7, 8, 73, 74, 75, 76, 77), die eine Änderung des Verteilungsmusters der Glykane unter  $\beta$ -adrenerger Stimulation in vitro zeigten, sollte diese Untersuchung klären, ob sich derartige Veränderungen auch unter endogener Stimulation zeigen würden. Dies hatte jedoch nicht invasiv und ohne Belastung der Probanden mit radioaktiven Isotopen zu geschehen. Um Speichelproben unter adrenerger Stimulation entnehmen zu können, sollten die Probanden während der Entnahme der Proben körperliche Arbeit auf einem Fahrradergometer verrichten. Dafür war eine ausreichende Bewegungsfreiheit und ungehinderte Mundatmung während der Entnahmeprozedur zu gewährleisten.

Um sicherzustellen, daß die neurotransmitterregulierte Stimulation sich in der Speichelzusammensetzung niederschlägt, wurde ein mit 20 Minuten vergleichsweise langer Zeitraum für die Speichelentnahme gewählt. Dadurch entstanden für die großen Speicheldrüsen in der Mehrzahl relativ große Proben von mehreren Millilitern. Bei den kleinen, in der Mukosa gelegenen Drüsen war

dagegen die Entnahmezeit für eine ausreichende Probenmenge noch nicht lang genug.

Mit dem für diese Untersuchung verwendeten Verfahren des kompetitiven Lektinbindungsassays ist es möglich, Proben mit einem Volumen ab 100 µl zu verarbeiten. Proben im Milliliterbereich lassen sich jedoch einfacher handhaben. Besonders das Pipettieren aus dem Überstand nach dem Zentrifugieren von sehr kleinen Proben bereitet Schwierigkeiten.

#### 4.1.5 Wertung der Apparatur zur Speichelgewinnung

Um die gestellten Forderungen zu erfüllen, wurde zur Speichelnahme die unter „Material und Methode“ beschriebene Anlage entwickelt und eingesetzt. Sie stellt eine weitgehende Vereinfachung der Anlage von Coudert (23) in Kombination mit Parotissaugern in Anlehnung an jene nach Lashley (83) dar. Sie ist zusätzlich in der Lage, Sekrete der kleinen Speicheldrüsen von verschiedener Arealen der Mundschleimhaut aufzufangen. Sie ist universell einsetzbar, sehr wenig störanfällig und läßt dem Probanden Bewegungsfreiheit für die körperliche Belastung. Sie löst keinen Brechreiz aus, behindert nicht die Mundatmung und wird von den Probanden gut akzeptiert, so daß sie über einen längeren Zeitraum im Mund getragen werden kann.

Für die großen Speicheldrüsen gelang die Abnahme des gesamten Sekretes ohne Verluste und Verunreinigungen auf Anhieb. Der Teil zur Entnahme der mandibulären Proben bekam nach der ersten Testphase Schläuche mit 2 mm Innendurchmesser, da die hohe Viskosität des Unterkieferspeichels ein Fließen durch den zuerst eingesetzten Schlauch mit 1 mm Durchmesser behinderte. Zusätzlich bekamen die nierenförmigen Sauger durch das Einarbeiten kleiner Abschnitte von Injektionskanülen seitlich kleine Öffnungen. Der Durchmesser dieser Öffnungen wurde weit unter dem Maß des dünnen Schlauches gehalten, um dem noch visköseren Speichel der kleinen Drüsen von Zunge und Mundboden den Zutritt zu versperren. Die Nebenluft sorgte für ein stetiges Voran-

treiben des Speichels in den Schläuchen.

Während der Entnahme war zu beobachten, daß der Zungenrand und der Mundboden von einem zäh-mukösen Film überzogen blieben, sich jedoch keine Pfützen im Mundboden bildeten und das Frenulum labiale trocken blieb. Es kann somit davon ausgehen werden, daß der Speichel aus den großen Drüsen des Mundbodens vollständig abgesaugt wurde und keine Mischung von links und rechts stattfand. Der muköse Film auf der Schleimhaut war Indiz dafür, daß das Sekret der kleinen Drüsen nicht mit aufgenommen wurde.

Die Sauger für die Parotis funktionierten ohne weitere Modifikation gut. In den durchsichtigen Schläuchen konnte der blasenfreie Entnahmevorgang beobachtet werden, und die trockenen Wangenschleimhaut zeigte an, daß der Parotisspeichel zu 100% aufgefangen wurde.

## **4.2 Wertung der Ergebnisse**

### **4.2.1 Speichelflußrate**

Entnommene Speichelproben lassen sich anhand ihres Gewichtes genauer quantifizieren als durch Volumenbestimmung (3). Auf Grund des spezifischen Gewichtes von ca.  $1 \text{ g/cm}^3$  läßt sich die Speichelflußrate direkt in ml/min ausdrücken. Über gemessene Flußraten gibt es in der Literatur sehr unterschiedliche Angaben. Je nach verwendeter Methode entsteht bereits durch die Entnahme selbst eine mehr oder weniger starke Stimulation, die die Ruhesekretion beeinflusst. Für bewußt stimulierte Speichelflußraten ist die Art der Stimulation bestimmend. Hinzu kommen große interindividuelle Unterschiede in der Sekretionsleistung (14).

Um die tatsächliche Sekretionsleistung von Drüsengewebe zu bestimmen, wäre es angezeigt, die sezernierte Menge pro Zeiteinheit in Relation zum Drüsengewicht zu setzen (24). Dies ist jedoch bei der Untersuchung humaner Speicheldrüsen in vivo nicht möglich.

Eine Übersicht über die von verschiedenen Autoren gefundenen Speichelflußraten geben die Tabellen 7-9, in der jeweils an letzter Stelle die Ergebnisse aus

dieser Untersuchung eingefügt sind.

Tabelle 7a: Vergleich der gemessenen Speichelflußraten der Parotis mit Angaben aus der Literatur

Autor	Parotis in Ruhe	Parotis stimuliert
Heft (49)	0,044 - 0,056 ml/min pro Drüse	0,619 - 0,843 ml/min pro Drüse; 2% Zitronensäure
Baum (9)		0,713 - 0,955 ml/min pro Drüse; 2% Zitronensäure
Münzel (98)	0,05 ml/min pro Drüse	Ruhewert x 3 bis x 20; Durchschnitt 0,3 - 0,7 ml/min pro Drüse
Suber (142)		0,32 - 0,36 ml/min; Zitronensäuredrops
Aktuelle Untersuchung	0,25 ml/min beide Seiten	0,25 ml/min; körperliche Belastung

Tabelle 8: Vergleich der gemessenen gemeinsamen Speichelflußraten der Gll. submandibulares und Gll. sublinguales mit Angaben aus der Literatur

Autor	Submand. in Ruhe	Submand. stimuliert
Münzel (98)	0,5 ml/min	Ruhewert x 2 bis x 3
Pedersen (111)	0,012 - 0,073 ml/min pro Seite	0,085 - 0,282 ml/min pro Seite; Zitronendrops
Dawes (24)	0,26 ml/min beide Seiten	bis 3 ml/min beide Seiten; Zitronendrops
Aktuelle Untersuchung	0,39 ml/min beide Seiten	0,25 ml/min; körperliche Belastung

Tabelle 9: Vergleich der gemessenen Gesamtspeichelflußraten mit Angaben aus der Literatur

Autor	Gesamtspeichelflußrate in Ruhe	Gesamtspeichelflußrate stimuliert
Kashket (66)		1,0 - 2,0 ml/min; Paraffinkauen
Ben-Aryeh (12)	0,25 - 0,52 ml/min	1,28 - 1,66 ml/min; 2% Zitronensäure
Münzel (98)	0,33 - 0,5 ml/min	
Navazesh (100)	0,47 - 0,52 ml/min	1,15 ml/min; Zitronensäurepapier 2,64 ml/min; Zitronensäuredrops
Ericsson (33)	0,25 - 0,35 ml/min	1,0 - 3,0 ml/min; Paraffinkauen
Aktuelle Untersuchung	0,74 ml/min	0,70 ml/min; körperliche Belastung

Die in den Tabellen 7-9 zusammengetragenen Daten entstammen größtenteils Untersuchungen, die den Vergleich von Speichelflußraten im Verhältnis zum Alter und/oder Geschlecht oder den Vergleich von verschiedenen Entnahmemethoden zum Ziel hatten. Unter Vernachlässigung dieser Differenzierungen wurden jeweils die niedrigsten und höchsten Werte in die Tabelle aufgenommen. Für die Ruhesekretion stimmen die Werte in der vorliegenden Untersuchung weitgehend mit denen in der Literatur überein. Dies ist erklärbar aus der Möglichkeit, die Entnahmebedingungen weitgehend zu standardisieren. Ruhebedingungen für den Probanden, d.h. der Zustand, in dem die Speichelsekretion alleine durch den Wachzustand stimuliert ist, lassen sich relativ leicht herstellen. Es muß jedoch davon ausgegangen werden, daß eine, wie in der vorliegenden Arbeit verwendete, umfangreiche intraorale Apparatur zur Entnahme von Speichelproben bereits einen sekretorischen Reiz darstellt.

Der Parotisspeichel läßt sich durch die exponierte Lage der Austrittsöffnung sehr sicher gewinnen, wodurch die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen gut miteinander vergleichbar sind. Unterschiedliche Ergebnisse sind vermutlich auf Stimulation durch die verschiedenen Entnahmemethoden zurückzuführen. Es

kann davon ausgegangen werden, daß bei gleichzeitiger Abnahme des Speichels der Unterkieferdrüsen der Reiz durch die umfangreiche Apparatur sich vor allem auf die Sekretionsleistung der Parotis auswirkt, da sie auf eine Reizung zur Sekretion relativ stärker reagiert als die anderen Drüsen. Entsprechend fallen die Ergebnisse für die Ruhesekretion der Parotis in dieser Untersuchung höher aus als in in den Literaturangaben.

Auch für die Gll. submandibulares/sublinguales wirkt sich die verwendete Apparatur auf die erzielten Werte aus (111). Im Gegensatz zur Parotis werden hier sehr verschiedenartige Methoden angewandt, mit denen der Speichel mehr oder weniger sicher gewonnen werden kann. Die in der vorliegenden Untersuchung verwendete Apparatur ermöglicht es, den Speichel dieser Drüsen mit großer Sicherheit vollständig und ohne Verunreinigung aufzunehmen. Der erreichte Wert liegt vermutlich schon deshalb im oberen Feld der Literaturangaben, jedoch noch weit unterhalb der maximal erreichbaren Menge. Es muß auch hier von einer durch die Entnahmemethode verursachten Grundstimulation ausgegangen werden, jedoch bleibt ebenso wie in der Parotis genügend Raum für eine Steigerung durch einen sekretorisch wirksamen Reiz.

Für den Gesamtspeichel haben die verschiedenen Sammelmethoden (Ausspucken, Absaugen, Auslaufen lassen oder Aufsaugen mittels Watterollen) keinen gravierenden Einfluß auf das Ergebnis (100). Die durch die Abnahmemethode verursachte Grundstimulation, die sich vor allem auf die Parotis auswirkt, verliert in der Gesamtspeichelmenge an Gewicht. Für letztere liegt der Wert in dieser Untersuchung nur geringfügig höher als die Angaben in der Literatur. Die unter körperlicher Belastung erreichten Werte unterliegen einer weiten Schwankungsbreite, die für jede Art von Stimulation auf die Art und Intensität des Reizes zurückzuführen ist (32). Im vorliegenden Experiment wurde versucht, alle Probanden einer möglichst gleichen Stimulation des adrenergen Systems auszusetzen. Da der Trainingszustand der Personen sehr unterschiedlich war, wurde nicht die körperliche Leistung gemessen, sondern die Pulsfrequenz für die Standardisierung herangezogen. Die Probanden sollten

während der Messung unter Belastung möglichst gleichmäßig eine Pulsfrequenz von 140/min halten. Dabei wurde deutlich, daß untrainierte Personen in der Leistungsabgabe eher gebremst werden mußten, um diesen Wert nicht zu überschreiten, während trainierte Probanden sich wesentlich mehr anstrengen mußten, um den Wert überhaupt zu erreichen.

Ein Anstieg der Flußrate unter körperlicher Belastung konnte in der vorliegenden Untersuchung für keine der beiden Gruppen festgestellt werden. Im Gegensatz zu der Stimulation mit dem  $\beta$ -Sympathomimetikum Isoproterenol, die eine kurzfristige Erhöhung des Speichelflusses zur Folge hat (98, 63), ist bei Speichergewinnung über einen längeren Zeitraum die natürliche adrenerge Stimulation durch körperliche Belastung offenbar nicht in diesem Sinne wirksam. Da in den menschlichen Speicheldrüsen sowohl  $\alpha$ - als auch  $\beta$ -Rezeptoren vorhanden sind, die in Bezug auf die Flußrate entgegengesetzte Wirkung haben (67), mag die unterschiedliche Wirkung von Isoproterenol und Adrenalin auf die adrenergen Rezeptoren dafür verantwortlich sein. Schließlich führte eben die abgestufte Reaktion der Rezeptoren auf die Katecholamine Noradrenalin, Adrenalin und Isoproterenol zu der Unterscheidung von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren. Dabei steht Adrenalin jeweils in der Mitte der Reihe, wirkt also auf beide Rezeptortypen gleich gut, während Isoproterenol auf  $\beta$ -Rezeptoren am stärksten, auf  $\alpha$ -Rezeptoren am geringsten wirkt (56).

In Tierexperimenten an Katzen, Hunden, Kaninchen und Ratten wurden die Wirkungen des autonomen Nervensystems auf Speicheldrüsen untersucht. Zusammenfassend wird von Emmelin (31) den  $\alpha$ -Rezeptoren eine kontrahierende Wirkung auf myoepitheliale Zellen sowie eine vasokonstriktorische Wirkung auf die versorgenden Blutgefäße zugesprochen. Erstere verursacht einen initialen Sekretionsschub, der jedoch schon nach weniger als 30 Sekunden seinen Effekt verliert. Der vasokonstriktorische Effekt der  $\alpha$ -adrenergen Reizung führt dauerhaft eher zu einer Sekretionsverminderung, die allerdings durch eine parasym-

thische Reizung leicht zu überspielen ist. Nach Blockade der  $\alpha$ -Rezeptoren läßt sich durch starke adrenerge Reizung eine geringe Sekretionssteigerung erzeugen, wohingegen nach vorausgegangener parasympathischer Stimulation schon eine geringe adrenerge Stimulaton ausreicht, um eine schnelle und deutliche Sekretionssteigerung zu erzeugen (sogenannte „echte augmentative Sekretion“). Dies kann unter den experimentellen Gegebenheiten ( $\alpha$ -Blockade) nur durch einen  $\beta$ -adrenergen Reiz ausgelöst sein.

Es wird heute als gesichert angesehen, daß Änderungen der intrazellulären Konzentration an freiem Kalzium eine zentrale Rolle bei der Flüssigkeitssekretion von Speicheldrüsenacinuszellen spielen (152). Die Stimulation von muscarinartigen cholinergen Rezeptoren sowie von  $\alpha$ -adrenergen Rezeptoren führt zu einer Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration (120), während  $\beta$ -adrenerge Agonisten nicht diese Wirkung haben und keine signifikante Flüssigkeitssekretion auslösen (152). Alle genannten Erkenntnisse stammen aus Tierexperimenten unter nicht physiologischen Bedingungen. Es ist zweifelhaft, ob adrenerge Stimulation unter physiologischen Bedingungen eine steigernde Wirkung auf die Flüssigkeitssekretion hat (31).

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigen, daß dies zumindest beim Menschen nicht der Fall ist. Im Wachzustand und insbesondere durch das Tragen der Apparatur muß von einer parasympathischen Grundstimulation ausgegangen werden. Die zusätzliche Stimulation des adrenergen Systems durch körperliche Belastung führte über die Entnahmedauer von 20 Minuten nicht zu einer weiteren Steigerung der Speichelflußrate. Dabei ist es möglich, daß ein initialer Anstieg der Flußrate während der ersten Sekunden der Reizung, wie er durch die Kontraktion der myoepithelialen Zellen verursacht wird, durch die vergleichsweise lange Dauer der Entnahme überspielt wird. Es kommt unter der Belastung über 20 Minuten für die submaxillären Drüsen und den Gesamtspeichel zu einer geringfügigen Abnahme der Flüssigkeitssekretion, die auf dem vasokonstriktorisches Effekt der gewählten Reizung beruhen könnte.



Durch extreme elektrische sympathische Reizung ist es möglich, parasympathisch hervorgerufene Speichelsekretion durch Vasokonstriktion zu reduzieren. Emmelin bezweifelt jedoch, daß dies eine physiologische Situation widerspiegelt. Es erscheint ihm nicht glaubhaft, daß der Organismus eine durch nervale Impulse vermittelte Leistung durch andere Effekte des gleichen Systems wieder aufhebt (31). Möglicherweise führt jedoch die hohe körperliche Belastung durch  $\alpha$ -adrenerg vermittelte Vasokonstriktion zu einer Minderdurchblutung der Drüsen und wird durch den sekretionssteigernden Effekt der adrenergen Stimulation aufgefangen. In Anbetracht der Komplexität der autonomen Versorgung der Speicheldrüsen mag der physiologische Sinn dieser gegenläufigen Regulation noch verborgen sein. Denkbar wäre z.B., daß die Verminderung des Speichelflusses durch die Vasokonstriktion von einer gegenläufigen Regulation aufgefangen werden muß, um bei hoher Belastung und damit vermehrtem Sauerstoffverbrauch ein ausreichendes Anfeuchten der Atemluft zu gewährleisten.

Die Sekretion von hochmolekularen Stoffen in den Speichel unterliegt einer  $\beta$ -adrenozeptorvermittelten Regulation. Ihre Wirkung besteht in der durch die Erhöhung der intrazellulären cAMP ausgelösten Exozytose von vesikulär gespeicherten Proteinen und Mucinen. In den Submandibulardrüsen von Ratten scheint dieser Mechanismus für die Exozytose notwendig zu sein, während sich in der Parotis von Mäusen und Ratten eine gesteigerte Sekretion von Amylase auch durch einen ausschließlich cholinergen oder  $\alpha$ -adrenergen Reiz auslösen läßt. Die Antwort fällt jedoch signifikant geringer aus als bei  $\beta$ -adrenerger Reizung. Zusätzlich zum adrenergen Reiz scheint aber auch der intrazelluläre Kalziumspiegel für die Exozytose eine Rolle zu spielen. Durch die gleichzeitige elektrische Reizung parasympathischer und sympathischer Nerven mit niedrigen Frequenzen, was einer lebensnahen Situation nahekommen sollte, wurde eine höhere Proteinsekretion erreicht als bei individueller Reizung der Nerven. Eine synergistische Wirkung der autonomen Nervensysteme ist in den Speicheldrüsen wahrscheinlicher als eine antagonistische Wirkung (118). Die verschiedenen Mechanismen

der Sekretion sowohl für das seröse Sekret als auch für die hochmolekularen Stoffe der Speicheldrüsen sind offensichtlich auf komplizierte Weise miteinander verwoben (120). Die tatsächlichen Zusammenhänge sind zum Teil noch ungeklärt. Einen ausführlichen Überblick über den Stand der Wissenschaft auf diesem Gebiet haben Garrett und Proctor gegeben (37). Es wird in der Zukunft noch einiger Forschung bedürfen, um die intrazellulären Mechanismen der Speichelproduktion und Sekretion vollständig aufzuklären. Erst dann werden die unterschiedlichen Ergebnisse in der Literatur zufriedenstellend erklärbar sein.

#### 4.2.2 Lektinbindung

Bisherige Untersuchungen zur Kohlenhydratsekretion aus Speicheldrüsen nutzten die Markierung der Kohlenhydrate mit radioaktiven Substanzen. Dadurch beschränkt sich die Anwendung der Tests auf in vitro Untersuchungen und Tierexperimente. Der kompetitive Lektinbindungstest ermöglicht das nicht-invasive Messen definierter Saccharid- und Oligosaccharidstrukturen, wodurch solche Untersuchungen auch am Menschen durchgeführt werden können. Das Kohlenhydratmuster einer Speichelprobe wird durch die Aktivität der Probe beschrieben, verschiedene spezifische Lektin-Kohlenhydratbindungen zu inhibieren. Dabei werden auf einen gewählten Standard bezogene relative Mengen der Lektinrezeptoren in der Probe gemessen. Der Vergleich mit dem Bindungsverhalten des Standards ermöglicht den Rückschluß auf den Gehalt der Probe an dem entsprechenden Rezeptor. Durch Bezug auf denselben Standard werden die Proben in ihrem Bindungsverhalten an bestimmte Lektine vergleichbar. Die Verwendung mehrerer Lektine in getrennten Messungen ermöglicht das Darstellen von Verteilungsmustern der untersuchten Glycanstrukturen in den Proben. Das Vorgehen bei der labortechnischen Untersuchung wird unter Material und Methode im Abschnitt 2.3 beschrieben.

##### *4.2.2.1 Parotissekrete*

##### 4.2.2.1.1 Bindungsfähigkeit an das Lektin AAA

Für dieses Lektin wurden für die Parotis keine Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt. Die Darstellung der Grafiken im Abschnitt 3.2.1.1 (Abbildungen 12, 13, 14, 15) soll den optischen Vergleich mit den Grafiken für die anderen Lektine ermöglichen. Durch die besondere Form der grafischen Darstellung (siehe Abschnitt 3.2) lassen sich Tendenzen auch dort erkennen, wo sich keine statistisch signifikanten Unterschiede ergeben.

#### 4.2.2.1.2 Bindungsfähigkeit an die Lektine ConA und GNA

Unterschiedliche Bindungskapazitäten wurden hauptsächlich in der Reaktion auf die mannosebindenden Lektine Concanavalin A und Galanthus Nivalis Agglutinin gefunden.

Im Parotisspeichel ist in Ruhe kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen feststellbar. Unter Belastung auf dem Fahrradergometer liegt die relative Konzentration und die relative Sekretionsrate von Trimannosylstrukturen (Bindung an Concanavalin A) im Parotisspeichel der RPP - Gruppe signifikant über denen der Kontrollgruppe (Abschnitt 3.2.1.2, Abbildung 16, 17).

Die Werte für die Kontrollgruppe steigen unter körperlicher Belastung zwar ebenfalls an, so daß der Durchschnittswert sich verdoppelt; signifikant wird die Differenz zum Ruhespeichel jedoch nur für die RPP-Patienten (Abschnitt 3.2.2.2, Abbildung 28, 29).

Die relative Konzentration endständiger Mannosereste (Lektin GNA) ist weder in Ruhe noch unter der körperlichen Belastung zwischen den Gruppen unterschiedlich. Sie steigt aber in beiden Gruppen unter körperlicher Belastung signifikant an (Abschnitt 3.2.2.3, Abbildung 32). In der relativen Sekretionsrate zeigt sich nur in der RPP-Gruppe ein signifikanter Anstieg unter Belastung (Abschnitt 3.2.2.3, Abbildung 33). Dies führt tendenziell auch im Vergleich der Gruppen zu einer Differenz (Abschnitt 3.2.2.3, Abbildung 34).

Die Ergebnisse spiegeln die Reaktionsbereitschaft der Parotis auf adrenerge Stimulation wieder, wie sie von Banerjee, Kousvelari und Baum beschrieben wurde (siehe 1.2.4, Steuerung der Glykoproteinsynthese). Dabei handelt es sich nicht um eine unspezifische Aktivierung von mikrosomenmembrangebundenen Enzymen, sondern um die Aktivierung von Schlüsselenzymen (7). Der Effekt beruht offensichtlich auf einer neurotransmitterregulierten Aktivierung von Glykosyltransferasen für Dolichol-gebundenen Glykane, die an dem Aufbau der Oligosaccharide vor der eigentlichen Proteinglykosylierung beteiligt sind (75, 77). Das verstärkte Erscheinen von Oligomannosylgruppen im Speichel unter adrenerger Stimulation in diesem Experiment deckt sich mit den Angaben in der

Literatur. Damit wird deutlich, daß die Anwendung des Lektinbindungsassays eine geeignete Methode ist, verlässliche Ergebnisse über Kohlenhydratsekretion aus einer nichtinvasiven in vivo Untersuchung zu erhalten. Die Ergebnisse zeigen zusätzlich, daß die unter Isoproterenoleinwirkung verstärkte Sekretion von Mannose auch unter physiologischen Bedingungen ausgelöst werden kann. Im Fall der RPP-Patienten ist sowohl die Sekretion von Trimannosylstrukturen (Lektin Con A) als auch die Sekretion von terminaler Mannose (Lektin GNA) erhöht. Da der High-Mannose-Typ ein Vorläufer in der Synthese komplexer Glykane ist (siehe Abbildung 1), wäre eine mögliche Erklärung die Sekretion von Glykanen, die unter nicht stimulierten Bedingungen vor der Sekretion an ihren endständigen Mannoseresten weiter substituiert worden wären. Möglicherweise kann das erhöhte Angebot an Substrat aus dem Syntheseweg im endoplasmatischen Retikulum von den Glycosyltransferasen des Golgi-Apparates nicht im selben Maße umgesetzt werden, so daß ein relativer Anstieg mannosehaltiger Glykane im Sekret resultiert. Nähert sich die von den Glykosyltransferasen katalysierte Reaktion ihrer Maximalgeschwindigkeit, wird eventuell nur noch einer der sechs endständigen Mannosereste aus den drei Trimannosylstrukturen durch ein anderes Kohlenhydrat ersetzt. Damit bleiben noch 5/6 der vorhandenen endständigen Mannosylreste, aber nur 1/3 der Trimannosylstrukturen in diesem Teil des Glykans erhalten. Durch Substitution von Mannoseresten in High-Mannose-Typ-Glykanen nimmt daher die Menge von Trimannosylstrukturen proportional stärker ab als die Menge endständiger Mannosereste. Dies könnte eine Erklärung dafür sein, daß unter körperlicher Belastung in der Kontrollgruppe nur die relative Konzentration endständiger Mannosylreste signifikant ansteigt, die der Trimannosylstrukturen jedoch nicht. In der RPP-Gruppe wird möglicherweise die Bereitstellung von Substrat aus dem Syntheseweg des ER stärker gesteigert als in der Kontrollgruppe, so daß in noch höherem Maße unsubstituierte endständige Mannosylreste sezerniert werden. Die Ergebnisse aus den Lektinassays sind allerdings nur als ein Hinweis auf die möglicherweise ablaufenden intrazellulären Prozesse zu werten und stellen keine exakte bioche-

mische Analyse dar.

Mannosespezifische Lektine finden sich häufig auf der Oberfläche infektiöser Mikroorganismen. Für viele Spezies der Gattung Enterobacteriaceae setzt sich der Rezeptor offensichtlich aus einer einzigen Kohlenhydratstruktur zusammen, nämlich Mannose (10). Auch der putativ parodontalpathogene Keim *Treponema denticola* besitzt neben anderen Adhäsinen ein Lektin mit Spezifität für Mannose (158). Nach neuesten Erkenntnissen scheint Mannose als Lektinrezeptor auch eine Rolle beim Transport von HIV-1 Viren durch epitheliale Oberflächen zu spielen (64).

#### 4.2.2.1.3 Bindungsfähigkeit an das Lektin SNA

Sehr hohe Werte und damit eine starke Bindungsfähigkeit der Speichelproben wurde für das Lektin SNA gefunden, daß an terminale 2,6 gebundene Sialinsäure bindet. Unter den Kohlenhydratbestandteilen der Muzine ist Sialinsäure einer der häufigsten Monosaccharide (50). In den Glykoproteinen muköser Sekrete der Schleimhäute und der Speicheldrüsen (daher der Name *Sialinsäuren*) kommt sie in terminaler Stellung der prosthetischen Kohlenhydratgruppe vor und maskiert damit darunter liegende Rezeptoren für andere Lektine (129). Erst nach Abspaltung durch Neuraminidasen, die häufige Pathogenitätsfaktoren von Bakterien sind, werden diese Rezeptoren freigelegt. Die hier verwendete Entnahmemethode der Speichelproben, die den Kontakt des Speichels mit dem oralen Milieu ausschließt, verhindert den Einfluß bakterieller Enzyme und damit die Freilegung durch Sialinsäuren maskierter Rezeptoren. Hierin mag die Erklärung dafür liegen, daß für die Lektine GS1, PNA und VVA unerwartet niedrige Werte erhalten wurden, also die Speichelproben nur in geringem Maße an diese Lektine banden.

Der Vergleich zwischen RPP und Kontrollen ergab keine Unterschiede, jedoch war innerhalb der RPP-Gruppe ein signifikanter Anstieg in der relativen Sekretionsrate unter körperlicher Belastung zu verzeichnen (Abschnitt 3.2.2.5, Abbildung 36). Die relative Konzentration zeigte hier zumindest eine Tendenz in die-

selbe Richtung ( $p=0,0754$ , Abbildung 35). Die Belastung führt in der RPP-Gruppe offensichtlich zu einer Sekretionssteigerung von sialylierten Glykanen, während dies in der Kontrollgruppe nicht der Fall ist. Ob sich dahinter die erhöhte Sekretion anderer Kohlenhydratstrukturen verbirgt, die zum Zeitpunkt ihrer Sekretion mit einer terminalen Sialinsäure versehen sind, sollten weitere Untersuchungen mit neuraminidasebehandeltem Speichel zeigen.

#### 4.2.2.1.4 Bindungsfähigkeit an das Lektin VVA

Nach den Ergebnissen einer früheren Untersuchung an unserem Institut (62) war die Bindungsfähigkeit des Speichels an das Lektin VVA von besonderem Interesse. Darin wurde 11 RPP-Patienten Ruhespeichel als auch durch Paraffinkauen erzeugter Reizspeichel entnommen. Die Proben wurden als Gesamtspeichel durch Ausspucken gewonnen. Die Messung mit dem kompetitiven Lektinbindungs-inhibitionstest ergab ein Absinken der VVA-Bindung im Speichel der RPP-Patienten gegenüber der Kontrollgruppe durch die Stimulation des Speichelflusses. Die jetzt gewählte Versuchsanordnung sollte unter anderem dieses Ergebnis weiter untersuchen. Allerdings wurden, wie oben bereits erwähnt, unerwartet niedrige Bindungskapazitäten der Speichelproben an das Lektin VVA gemessen und es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Ruhe und körperlicher Belastung.

Folgende Punkte können dafür verantwortlich sein:

1. In der Untersuchung von 1994 wurden Patienten mit einer RPP im nicht aktiven Stadium untersucht, während alle Probanden in der hier vorgelegte Arbeit akut entzündete parodontale Läsionen hatten. Möglicherweise ist ein Grund für die verschiedenen Ergebnisse darin zu finden, daß sich das Glykosylierungsmuster der Speicheldrüsen mit dem Status der Erkrankung verändert. Ob die Veränderung eine Reaktion auf die akuten Exazerbationen ist oder ihnen vorausgeht, muß in nachfolgenden Studien untersucht werden.

2. Ein weiterer Unterschied in der Versuchsanordnung besteht in der unterschiedlichen Wahl der Stimulation. Während in dem Versuch von 1994 die Speichelflußrate durch das Kauen von Paraffinblöcken erhöht wurde, betraf die Stimulation in der vorliegenden Studie das endogene adrenerge System, was keinen Effekt auf die Speichelmenge hatte. Die komplizierten und noch weitgehend unaufgeklärten intrazellulären Beziehungen zwischen Flüssigkeitssekretion und Exozytose von Glykanen können zu den sehr unterschiedlichen Ergebnissen in den Studien geführt haben. Weitere in vivo Versuche sowie Fortschritte in der Erforschung intrazellulärer Abläufe und Zusammenhänge der Zellaktivitäten in den Speicheldrüsen können hierbei zur Aufklärung beitragen.
3. In der vorliegenden Untersuchung wurde durch die Abnahmemethode eine Selektion des Speichels dahingehend vorgenommen, daß das Sekret der rein mukösen Speichel produzierenden kleinen Speicheldrüsen von den Produkten der großen Speicheldrüsen getrennt aufgefangen wurde. Die erreichten Probenmengen von den erfaßten Mundschleimhautarealen reichten allerdings für die labortechnische Untersuchung nicht aus. Es besteht daher die Möglichkeit, daß die in der früheren Untersuchung gemessene veränderte Bindung des Gesamtspeichels der RPP-Patienten an VVA von den Sekreten der kleinen Speicheldrüsen herrührte. Einen Hinweis auf den höheren Gehalt der mucösen Sekrete an terminalem 1,3-N-Acetylgalaktosamin geben die höheren Werte für die VVA-Bindung im Speichel der submaxillären Drüsen gegenüber dem Parotisspeichel.

Weiterführende Untersuchungen auf diesem Gebiet sollten den Einfluß bakterieller Enzyme auf die Bindungsaktivität von Speichelproben erforschen, wobei, wie in der vorliegenden Arbeit geschehen, die Differenzierung der Proben nach den sezernierenden Drüsen anzustreben ist. Eine Neuraminidasebehandlung der Proben sollte eher gezielt stattfinden, als sie einer unbekannten Aktivität bakteri-



eller Enzyme zu überlassen. Eine verlängerte Entnahmezeit mit der oben beschriebenen Apparatur könnte auch von den kleinen Speicheldrüsen verwertbare Probenmengen erzeugen.

Die Vergleichsstandards für jede Untersuchung sollten vor dem eigentlichen Messen der Proben durch Auswertung einer repräsentativen Anzahl von Proben festgelegt werden, um Verdünnungsstufen der Proben um einen Durchschnittswert für die Aktivität der Proben herum anordnen zu können. Auf diese Weise könnte verhindert werden, daß, wie im vorliegenden Fall, die Konzentration des Rezeptors in der Vergleichslösung zu stark von der Konzentration des Lektinrezeptors in der Probe abweicht.

#### 4.2.2.1.5 Bindungsfähigkeit an das Lektin WGA

Die Speichelbindung an Weizenkeim Agglutinin (Lektin WGA) konnte nur für die Parotis statistisch ausgewertet werden.

Unter körperlicher Belastung wurde in der Kontrollgruppe eine Steigerung der relativen Konzentration gegenüber dem Ruhespeichel gemessen (Abschnitt 3.2.2.6, Abbildung 37). Bei Betrachtung der Mediane der relativen Konzentration ist festzustellen, daß in beiden Gruppen eine Steigerung auf etwa den doppelten Wert unter körperlicher Belastung zu verzeichnen ist, die jedoch nur in der Kontrollgruppe zu einem signifikanten Unterschied gegenüber dem Ruhespeichel führt. Für die relative Sekretionsrate gibt es keine signifikante Veränderung, auch wenn der optische Eindruck der Grafik das für die RPP-Gruppe vermuten läßt (Abbildung 38).

Bei Gegenüberstellung der Gruppen liegt die relative Sekretionsrate der RPP-Gruppe unter körperlicher Belastung signifikant über der Kontrollgruppe (Abschnitt 3.2.1.5, Abbildung 25), während sie vor der Belastung annähernd gleich ist. Es ergibt sich keine signifikante Differenz zwischen den Werten für die relative Konzentration, obwohl sich auch hier ein Unterschied in der Grafik optisch andeutet.

Die Daten deuten darauf hin, daß in beiden Gruppen unter der Stimulation ver-

mehrt 1,4  $\beta$ -D- Acetylglukosamin in den Speichel sezerniert wird. Dieser Effekt scheint auch hier in der Gruppe der RPP-Patienten größer zu sein als in der Kontrollgruppe. Die unterschiedlichen Ergebnisse von relativer Konzentration und relativer Sekretionsrate beruhen darauf, daß zum Errechnen der Sekretionsrate die Werte für die Konzentration durch Multiplikation mit der Speichelmenge pro Minute zusätzlich in ein Verhältnis zur Speichelflußrate gesetzt wurden. Die großen interindividuellen Unterschiede im Speichelfluß und zusätzlich die Veränderungen der Flußrate der einzelnen Probanden unter körperlicher Belastung führen bei der relativ geringen Anzahl der Probanden leicht zu einem Auseinanderklaffen der Werte. Da die Flußrate und die Glykoproteinsekretion intrazellulär von verschiedenen Messengersystemen relativ unabhängig voneinander reguliert werden, ist die Sekretionsrate eher ein Maßstab für die Aktivität des Glykosylierungsapparates in den Drüsen als die Konzentration. Die gewonnenen Daten zeigen, daß die Ansprechbarkeit des Glykosylierungsapparates der Parotis auf die adrenerge Stimulation in der Gruppe der RPP-Patienten ausgeprägter ist als in der Kontrollgruppe. Ob dies eine Grundveranlagung der Parodontitiskranken zur Reaktion auf adrenerge Stimulation ist, oder ob dieser Unterschied sekundär auf die Erkrankung zurückgeführt werden muß, kann nicht entschieden werden. Weitere Untersuchungen mit therapierten Patienten sind dafür nötig.

#### *4.2.2.2 Sekrete der Gll. submandibulares/sublinguales*

##### 4.2.2.2.1 Bindungsfähigkeit an das Lektin AAA

Im Speichel der submaxillären Drüsen steigt nur die relative Konzentration von  $\alpha$ 1-2 gebundener Fukose (spezifisch für das Lektin *Anguilla anguilla* Agglutinin) unter körperlicher Belastung gegenüber der Ruhesekretion in der Kontrollgruppe signifikant an (Abschnitt 3.2.2.1, Abbildung 26). Dabei liegt der Median der Konzentration vor der Stimulation in der RPP-Gruppe bereits über dem Wert, den die Kontrollgruppe unter körperlicher Belastung erreicht. In der RPP-Gruppe fällt der Median sogar leicht ab. Für die relative Sekretionsrate findet sich kein signifi-

kanter Unterschied, obwohl in der Abbildung 27 ein unterschiedliches Verhalten der beiden Gruppen sichtbar wird.

#### 4.2.2.2.2 Bindungsfähigkeit an das Lektin PNA

Im Speichel der Kontrollen zeigt sich tendenziell ( $p = 0,0505$ ) eine Steigerung der relativen Konzentration von  $\beta$ -D-Galaktose-1,3 D-N-Acetyl-Galaktosamin durch die Belastung (keine Grafiken gezeigt). Der Median der RPP-Gruppe liegt aber auch hier schon vor der Stimulation deutlich über dem der Kontrollgruppe.

#### 4.2.2.2.3 Bindungsfähigkeit an die Lektine ConA und GNA

Im Vergleich der Gruppen sezernieren die submaxillären Drüsen der RPP-Patienten sowohl in Ruhe wie unter Belastung signifikant mehr Mannosylreste als die der Kontrollgruppe. Sowohl die Werte für die relative Konzentration als auch für die relative Sekretionsrate der Trimannosylstrukturen (Lektin Concanavalin A) liegen über denen der Kontrollgruppe (Abschnitt 3.2.1.2, Abbildung 18, 19). Dieser Unterschied bleibt unter körperlicher Belastung bestehen. Für endständige Mannosereste (Lektin Galanthus Nivalis Agglutinin) ist die relative Konzentration bei den RPP-Patienten ebenfalls in beiden Erregungszuständen erhöht (Abschnitt 3.2.1.3, Abbildung 20). Für die relative Sekretionsrate ist ein Unterschied nur optisch aus der Abbildung 21 zu ersehen, der statistisch nicht signifikant ist. Es zeigt sich für diese Drüsen weder in der RPP-Gruppe noch in der Kontrollgruppe eine durch körperlicher Belastung signifikante Steigerung der Bindung des Speichels an die mannosesensitiven Lektine (keine Grafiken gezeigt). Damit wird deutlich, daß eine Anpassung des Glykosylierungsapparates der großen Unterkieferdrüsen an die adrenerge Stimulation nicht stattfindet. Die Gruppen unterscheiden sich aber hinsichtlich der Sekretion mannosehaltiger Glykokonjugate in beiden Erregungszuständen. Besonders deutlich wird der unterschiedliche Level des Gehaltes an Trimannosylstrukturen aus der Gegenüberstellung der Medianwerte in den Abbildungen 30 und 31 im Abschnitt 3.2.2.2.

#### 4.2.2.2.4 Bindungsfähigkeit an das Lektin GS1

Auch für den Gehalt der Speichelproben der Unterkieferdrüsen an terminalem  $\alpha$ -N-Acetyl-Galaktosamin und terminaler Galaktose ist ein Unterschied zwischen RPP-Patienten und Kontrollen meßbar. Sowohl in Ruhe wie unter Belastung ist die relative Konzentration bei den RPP-Patienten signifikant erhöht, es kommt aber in keiner der beiden Gruppen zu einer Veränderung durch die adrenerge Stimulation. Bei der Betrachtung der Abbildung 23 im Abschnitt 3.2.1.4 fällt ein Unterschied auch für die relative Sekretionsrate ins Auge, statistisch ist er aber nicht relevant.

#### 4.2.3 Aussagekraft der Ergebnisse

Die Konzentration der Lektinrezeptoren im Speichel hat entscheidenden Einfluß auf seine antiadhäsive oder adhäsionsfördernde Wirkung. Sie ist daher für eine Beurteilung des Schutzmechanismus durch Glykane von Bedeutung. Die Aktivität des Glykosylierungsapparates ist besser durch die Sekretionsrate beurteilbar, da sie die Konzentration in Beziehung zur Menge des sezernierten Speichels setzt. Um den Schutzmechanismus durch Glykokonjugate aufrechtzuerhalten ist es notwendig, daß die Synthese und Sekretion der antiadhäsiv wirksamen Moleküle sich der Flüssigkeitssekretion anpaßt (62). Im Gesamtspeichel ist die Konzentration dafür aussagekräftig. In der Beurteilung des Beitrages einzelner Drüsen wird dagegen die Sekretionsrate bedeutungsvoll, da sie ein Maß für den Beitrag der Drüse zum Gesamtspeichel ist. Unter der Voraussetzung, daß die Speichelflußrate und die Glykosylierung relativ unabhängig voneinander regulierte Größen sind, wird die Sekretionsrate besonders für die Veränderungen unter körperlicher Belastung interessant.

Betrachtet man die Ergebnisse insgesamt, so läßt sich feststellen, daß sich unter adrenerger Stimulation durch körperliche Belastung die Speichelflußrate nicht verändert. Steigerungen der Sekretionsrate von Glykanstrukturen beruhen daher hauptsächlich auf einer erhöhten Produktivität des Glykosylierungsapparates der Drüsenzellen. Zeigen die Werte für die Konzentration und die Sekretionsrate

signifikante Veränderungen in der gleichen Richtung ist anzunehmen, daß eine neuronal vermittelte Anpassung der Glykosylierung auf einen Reiz erfolgt, die Auswirkungen auf die Wirtsabwehr gegen bakterielle Besiedelung hat.

#### 4.2.4 Vergleichende Betrachtung der Drüsen

In der Parotis wird die Sekretion von High-Mannose-Glykanen bei den RPP-Patienten durch die adrenerge Stimulation signifikant gesteigert und liegt dann über den Werten für die Kontrollgruppe. In Ruhe ist kein Unterschied zur Kontrollgruppe feststellbar. Das trifft auch für  $\alpha$ -2 - 6 gebundene Sialinsäure (Lektin SNA) zu, die als terminales Kohlenhydrat andere Rezeptoren für bakterielle Lektine maskiert. Obwohl auch Sialinsäuren Rezeptoren für bakterielle Lektine sind, wird dadurch das Spektrum der antiadhäsiv wirksamen Gruppen maskiert, wie es sich unter dem Einfluß bakterieller Enzyme darstellen würde. Einer effektiveren antiadhäsiven Aktivität durch die erhöhte Konzentration von Sialinsäuren steht eine verringerte Schutzwirkung durch mehrere andere Lektinrezeptoren gegenüber.

Als phylogenetisch jüngere Drüse zeigt die Parotis ihre schnelle Anpassungsfähigkeit an neuronale Impulse. Ihre Aufgabe ist es, durch Reaktion auf plötzlich auftretende Reize das Milieu in der Mundhöhle veränderten Situationen und Erfordernissen anzupassen. Das kommt auch in ihrem gegenüber den mandibulären Drüsen relativ größeren Ansprechen auf eine Stimulierung des Speichelflusses zum Ausdruck (siehe Tabellen 7 – 9 im Abschnitt 4.2.1). Die Bereitschaft der Parotis zur Anpassung des Schutzsystems durch eine gesteigerte Produktion von Speichelglykanen ist bei den RPP-Patienten offensichtlich größer als bei den Kontrollen.

Die Ergebnisse aus den Messungen des Speichels der Unterkieferdrüsen deuten darauf hin, daß es auch in diesen Drüsen eine Reaktion auf adrenerge Reizung gibt. Sie ist allerdings weniger deutlich als in der Parotis. Bei Betrachtung der Mediane für die relative Konzentration wie auch für die relative Sekretionsrate fällt auf, daß die Werte fast aller Lektine unter körperlicher Belastung in der Kon-

trollgruppe deutlich höher liegen, als im Ruhesekret. Für die Gruppe der RPP-Patienten liegen die Medianwerte unter körperlicher Belastung häufiger unter denen für Ruhespeichel. Andererseits sezernieren die RPP-Patienten aus den Unterkieferdrüsen sowohl in Ruhe als auch unter körperlicher Belastung signifikant mehr Glykane vom High-Mannose-Typ als die Kontrollen, die Aktivität ihres Glykosylierungsapparates ist dauerhaft erhöht. Die signifikant höhere Ausscheidung von High-Mannose-Strukturen der RPP-Patienten ohne Steigerungsfähigkeit unter Stimulation läßt sich dadurch erklären, daß die Speichelglykosylierung der RPP-Patienten schon in Ruhe bis die Grenze ihrer Syntheseleistung gesteigert ist. Damit zeigt sich auch hier die Natur der Drüsen, die für die ständige Aufrechterhaltung eines Milieus in der Mundhöhle zuständig sind. Mit ihrem hohen Anteil an Muzinen im Sekret überziehen sie die Schleimhaut mit einem zähen Gleit- und Schutzfilm, der durch seine Inhaltsstoffe auch antibakterielle Eigenschaften besitzt. Möglicherweise stellt die Erkrankung des Parodontiums einen Reiz dar, der das Potential für die Synthese oder Modifikation der Speichelglykane in den mandibulären Drüsen dauerhaft weitgehend ausschöpft. Die Parotis dagegen zeigt erst unter adrenerger Stimulation in der RPP-Gruppe eine gegenüber den Kontrollen erhöhte Glykosylierung des Speichels.

Ob dieses veränderte Glykosylierungsmuster eine Folge der Erkrankung ist, oder ob bei den Erkrankten ein Defekt im Schleimhautschutzsystem der Mundhöhle vorliegt, der in der Ätiologie der Erkrankung eine Rolle spielt, sollten weitere Untersuchungen klären. Bei folgenden Versuchsanordnungen sollte in Betracht gezogen werden, daß bei Patienten mit rasch fortschreitender Parodontitis möglicherweise eine erhöhte Reizbarkeit des adrenergen Systems vorliegen könnte. Unter dem Eindruck einer möglichen protektiven Funktion von High-Mannose-Typ-Glykanen gegen eine Infektion mit Pathogenen könnte diese Untersuchung eine hohe Bedeutung für das Verständnis von lokalen Schutzfaktoren auch gegen andere als dentalpathogene Mikroorganismen, z.B. HIV (64), haben.

Weitere interdisziplinäre Forschung bezüglich der Wirkung von psychischem Streß auf die Glykosylierungsmuster in Drüsensekreten erscheint sinnvoll.

**Literaturverzeichnis**

- 1 Accili D, Menghi G, Bondi A M and Scooco P: Glycoconjugate composition of mammalian parotid glands elicited in situ by lectins and glycosidases. Acta Histochem. 1992, 92, S.196 - 206,
- 2 Altman L C, Page R C, Vandersteen G E, Dixon L I, Bradford C: Abnormalities of leucocyte chemotaxis in patients with various forms of periodontitis. J Periodont Res. 1985, 20, S.553 - 563,
- 3 Atkinson J C, Dawes C, Ericson T, Fox P C, Gandara B K, Malamud D, Mandel I D, Navazesh M, Tabak L A: Guidelines for saliva nomenclature and collection. Hrsg.: Ann. N.Y. Acad. Sci: Saliva as a diagnostic fluid. Band 694. New York, 1993:
- 4 Azen E A: Genetic protein polymorphisms of human saliva. Hrsg.: Tenovuo J: Human saliva: Clinical chemistry and microbiology. Band 1. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1989:
- 5 Baderstein A, Nivelus R and Engelberg J: Effect of nonsurgical periodontal therapy. 1. Moderately advanced periodontitis. J Clin Periodontol. 1981, 8, S.57,
- 6 Baer P N: The case for periodontosis as a clinical entity. J Periodontol. 1971, 42, S.516 - 519,
- 7 Banerjee D K, Kousvelari E E and Baum B J: b-adrenergic activation of glycosyltransferases in the dolicholmonophosphate-linked pathway of protein N-glycosylation. Biochem and Biophys Res Comm. 1985, 126 Nr. 1, S.123 - 129,
- 8 Baum B J, Yeh C K and Kousvelari E E: Influence of b-Adrenergic stimulation on glycosylation of a major, secretory N - linked glycoprotein from rat parotid salivary gland. Archs oral Biol. 1990, 35 Nr. 3, S.201 - 207,

- 9 Baum B J: Evaluation of stimulated parotid saliva flow rate in different age groups. J Dent Res. 1981, *60* (7), S.1292 - 1296,
- 10 Beachey E H: Bacterial Adherence: Adhesin-receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. J Infect Diseases. 1981, *143*, S.325 - 344,
- 11 Beaty T H, Boughman J A, Yang P, Astemborsky J A, Suzuki J B: Genetic analysis of juvenile periodontitis in families ascertained through an affected proband. Am J Hum Genet . 1987, *40*, S.443 - 452,
- 12 Ben-Aryeh H, Miron D, Szargel R and Gutman D: Whole-saliva secretion rates in old and young healthy subjects. J Dent Res. 1984, *63* (9), S.1147 - 1148,
- 13 Bial J J, Melloning J T: Radiographic evaluation of juvenile periodontitis. J Periodontol. 1987, *58*, S.321 - 326,
- 14 Birkhed D and Heintze U: Salivary secretion rate, buffer capacity, and pH. Hrsg.: Tenovuo J: Human Saliva: Clinical Chemistry and Microbiology. Band 1. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1989:
- 15 Bourghan J A, Beaty T H, Yang P, Goodman S B, Wooten R Z, Suzuki J B: Problems of genetic model testing in early onset periodontitis. J Periodontol. 1988, *59*, S.332 - 337,
- 16 Boyd W C and Shapleigh E: Specific precipitating activity of plant agglutinins "lectins". Science. 1954, *119*, S.419,
- 17 Brandtzaeg P: Salivary immunoglobulins. Hrsg.: Tenovuo J: Human saliva: Clinical chemistry and microbiology. Band 2. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1989:
- 18 Bullen J J, Rogers H J and Leigh: Ion-binding proteins in milk and resistance to Escherichia Coli infections in infants. Brit Med J . 1972, *1*, S.69 - 75,
- 19 Busscher H J, Geertsema-Doornbusch G I and Van der Mei H C: On mechanisms of oral microbial adhesion. Journal of Applied Bacteriology



- Symposium Supplement. 1993, 74, S.136 S - 142 S,
- 20 Carlson A J and Crittenden A L: The relation of ptyalin concentration to the diet and to the rate of secretion of the saliva. Amer J Physiol.. 1910, 26, S.169,
- 21 Carlsson J: Bacterial Adherence. Hrsg.: Lindhe J: Textbook of Clinical Periodontology. Munksgaard, 1985:
- 22 Cianciola L J, Genco R J, Patters M R, McKenna J and Van Oss C J: Defective polymorphonuclear leucocyte function in a human periodontal disease. J Periodont Res. 1977, 265, S.445 - 447,
- 23 Coudert J L, Lissac M and Parret J: A new appliance for the collection of human submandibular saliva. Archs oral Biol. 1986, 31 (6), S.411 - 413,
- 24 Dawes C: The effect of flow rate and duration of stimulation on the concentrations of protein and the main electrolytes in human parotid saliva. Archs oral Biol. 1969, 14, S.277 - 294,
- 25 Deutsche Gesellschaft für Parodontologie: Neue Nomenklatur der marginalen Parodontopathien. Zahnärztliche Mitteilungen. 1987, 77, S.1352,
- 26 Doyle R and Keller K: Lectins in diagnostic microbiology. Europ J Clin Microbiol. 1984, 3, S.4 - 9,
- 27 Dzink J L, Socransky S S, Haffajee A D: The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal disease. J Clin Periodontol. 1988, 15, S.316 - 323,
- 28 Dzink J L, Tanner A C R, Socransky S S, Haffajee A D: Gram negative spezies associated with active periodontal lesions. J Clin Periodontol. 1985, 12, S.648 - 659,
- 29 Ebisu S, Nakae H, Fukuhara H and Okada H: The mechanisms of Eikenella corrodens aggregation by salivary glycoprotein and the effect of the glycoprotein on oral bacteria aggregation. J Periodont Res. 1992, 27, S.615 - 622,

- 30 Edgar W M: Saliva: Its secretion, compositions and funktion. Br Dent J. 1992, 172, S.305 - 312,
- 31 Emmelin N: Interactions between sympathetic and parasympathetic nerves in control of the salivary glands. Hrsg.: Emmelin N: Integrative functions of the autonomic nervous system. University of Tokyo Press, 1979:
- 32 Ericson S: An investigation of human parotid saliva secretion rate in response to different types of stimulation. Achs Oral Biol. 1969, 14, S.59,
- 33 Ericsson Y and Hardwick L: Individual diagnosis, prognosis and counselling for caries prevention. Caries Res. 1978, 12 (Suppl. 1), S.94,
- 34 Forstner G, Shih M and Lukie B: Cyclic AMP and intestinal glycoprotein synthesis: The effect of b-adrenergic agents, theophylline, and dibutyryl cyclic AMP. Can J Physiol Pharmacol. 1973, 51, S.122 - 129,
- 35 Gabius H-J, Rüdiger H und Uhlenbruck G: Lektine. Spektrum der Wissenschaft . 1988, November, S.50,
- 36 Garrett J R and Proctor G B: Control of salivation. Hrsg.: Linden R W A: The scientific basis of eating. Band 9. Karger, Basel, 1998: S.135 - 155,
- 37 Genco R J and Slots J: Host response in periodontal disease. J Dent Res. 1984, 63, S.441,
- 38 Gibbons R J and van Houte J: Bacterial adherence in oral microbial ecology. Ann Rev Microbiol. 1975, 29, S.19 - 44,
- 39 Gibbons R J: Adherent interactions which may affect microbial ecology in the mouth. J Dent Res. 1984, 63 (3), S.378 - 385,
- 40 Gibbons R J: Bacterial adhesion to oral tissues: A model for infectious disease. J Dent Res. 1989, 68 (5), S.750 - 760,
- 41 Goldstein I J and Hayes C E: The lectins: Carbohydrate binding proteins of plants and animals. Adv Carbohydr Chem Biochem. 1978, 35, S.127 - 340,

- 42 Goldstein I J, Hughes R C, Monsigny M, Osawa T and Shanon N: What should be called a lectin?. *Nature*. 1980, *285*, S.66,
- 43 Goodson M: Sustained delivery of Tetracycline. Antimicrobial treatment in periodontics, proceedings of a symposium in Copenhagen. Denmark, 1992: S.32 - 34,
- 44 Grant C W M and Peters M W: Lektin- membrane interactions. Information from model systems. *Biochem Biophys Acta* . 1984, *779*, S.403 - 422,
- 45 Gutteridge J M C, Paterson S K, Segal A W and Halliwell B: Inhibition of lipid peroxidation by the ion-binding protein laktoferrin. *Biochem J*. 1981, *199*, S.259 - 261,
- 46 Haffajee A D, Socransky S S, Dzink J L, Taubmann M A, Ebersole J L, Smith D J: Clinical, microbiological and immunological features of subjects with destructive periodontal diseases. *J Clinical Periodontol*. 1988, *15*, S.240 - 246,
- 47 Hardie J M: Oral microbiologie: current concepts in the microbiologie of dental caries and periodontal disease. *Br Dent J*. 1992, *172*, S.271 - 278,
- 48 Hay I D and Moreno E C: Statherin and the proline-rich proteins. Hrsg.: Tenovuo J: Human saliva: Clinical chemistry and microbiology. Band 1. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1989:
- 49 Heft M W and Baum B J: Unstimulated and stimulated salivary flow rate in individuals of different ages. *J Dent Res*. 1984, *63 (10)*, S.1182 - 1185,
- 50 Herp A, Borelli C and Wu A M: Biochemistry and lektin binding properties of mammalian salivary mucous glycoproteins. *Advances in experimental medicine and biology* . 1988, *228*, S.395 - 435,
- 51 Hirschberg C B and Snider M D: Topography of glycosilation in the rough endoplasmatic reticulum and golgy apparatus. *Ann Rev Biochem..* 1987, *56*, S.63 - 87,

- 52 Hoogendoorn H, Piessens J P, Scholtes W and Stoddard L A: Hypothiocyaite ion; the inhibitor formed by the system lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide. I. Identifikation of the inhibiting compound. Caries Res. 1977, 11, S.77 - 84,
- 53 Imai Y: Physiology of salivary secretion. Front Oral Physiol.. Band 2. Karger, Basel, 1976: S.186 - 206,
- 54 Jalil R A, Ashley F P, Wilson R F and Wagaiyu E G: Concentration of thiocyanate, hypothiocyanite, 'free' and 'total' lysozyme, laktoferrin and secretory IgA in resting and stimulated whole saliva of children aged 12 - 14 years and the relationship with plaque accumulation and gingivitis. J Periodont Res. 1993, 28, S.130 - 136,
- 55 James JA, Sayers NM, Drucker DB, Hull PS: Effects of tobacco products on the attachment and growth of periodontal ligament fibroblasts. J Periodontol. 1999, 70 (5), S.518 - 525,
- 56 Jänig W: Vegetatives Nervensystem. Hrsg.: Schmidt RF Thews G: Physiologie des Menschen. 23.. Springer-Verlag, Berlin, 1987:
- 57 Jenkins G N: The physiology and biochemistry of the mouth. Blackwell, Oxford, 1978:
- 58 Jensen J L, Lamkin M S and Oppenheim F G: Adsorption of human salivary proteins to hydroxyapatite: A comparison between whole saliva and glandular salivary secretions. J Dent Res. 1992, 71 (9), S.1569 - 1576,
- 59 Johnson N W, Griffiths G S, Wilton J M A, Maiden M F J, Curtis M A, Gillet I R, Wilson D T and Sterne J A C: Detection of high-risk groups and individuals for periodontal disease. J Clin Periodontol. 1988, 15, S.276,
- 60 Judd W J: The role of lectins in blood group serology. Critical review. Clin Lab Sci. 1980, 12, S.171 - 214,
- 61 Kage A: Novel competitive lectin-binding assay for quantitative characterization

- of glycoconjugate using different peroxidase-labeled lectins. J Clin Chem Clin Biochem. 1989, 27, S.701 - 702,
- 62 Kage A, Köttgen E, Hägewald S, Bernimoulin J-P: Oligosaccharide im Speichel. Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir . 1994, 18 (4), S.213 - 216,
- 63 Kage A, Fimmel S, Bernimoulin J-P, Hägewald S, Nitschke I, Kage R, Köttgen E: Oligosaccharides in mucosal host defense: model, method and first data. Hrsg.: Mestecky J et al: Adv. Mucosal Immunol.. Plenum Press, New York, 1995: S.1177 - 1182,
- 64 Kage A, Shoolian E, Rokos K, Özel M, Nuck R, Reutter W, Köttgen E und Pauli G: Epithelial uptake and transport of cell-free human Human Immunodeficiency Virus Type 1 and gp 120-coated microparticles. J Virology. 1998, S.4231 - 4236,
- 65 Kamma J J, Nakou M, Baehni P C: Clinical and microbiological characteristics of smokers with early onset periodontitis. J Periodont Res. 1999, 34 (1), S.25 - 33,
- 66 Kashket S, Guilmette K M and Ebersole J L: The effect of prolonged stimulation of salivary flow on bacterial reactive factors. J Dent Res. 1983, 62 (3), S.331 - 335,
- 67 Katz R and Mandel J D: Action and interaction of isoproterenol in a- and b-adrenergic blockers on parotid and submaxillary secretions in man. Prof Soc exp Biol. 1968, 128, S.1140,
- 68 Kerr A C: The physiological regulation of salivary secretions in man. A study of the response of human salivary glands to reflex stimulation. Band 1. International Series of Monographs on Oral Biology, 1961:
- 69 Kolenbrander P E: Coaggregation of human oral bacteria: Potential role in the accretion of dental plaque. Journal of Applied Bacteriology - Symposium Supplement. 1993, 74, S.97 S - 86 S,

- 70 Kolenbrander P E: Intergeneric coaggregation among human oral bacteria and ecology of dental plaque. *Ann Rev Microbiol.* 1988, 42, S.627 - 657,
- 71 Koop H M, Valentijn-Benz M, Nieuw Amerongen A V, Roukema P A and de Graaff J: Involvement of human mucous saliva and salivary mucins in the aggregation of the oral bacteria *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis*, and *Streptococcus rattus*. *Antonie van Leeuwenhoek.* 1990, 57, S.245 - 252,
- 72 Kornman K S: Refractory periodontitis: critical questions in clinical management. *J Clin Periodontol.* 1996, 23, S.293 - 298,
- 73 Kousvelari E E, Banerjee D K, Grant S R and Baum B J: Modulation of oligosaccharide processing in an exocrine secretory glycoprotein of rat parotid cells by b-adrenoceptor activation. *Archs oral Biol.* 1988 (a), 33 No. 2, S.115 - 120,
- 74 Kousvelari E E, Ciardi J E and Bowers M R: Altered bacterial aggregation and adherence associated with changes in rat parotid-ductal salivary proteins induced in vivo by b-adrenergic stimulation. *Archs oral Biol.* 1988(b), 33 Nr. 5, S.341 - 346,
- 75 Kousvelari E E, Fox P C and Baum B J: Regulatory aspects of N-linked glycoproteins. *J Dent Res.* 1987, 66 (2), S.552 - 556,
- 76 Kousvelari E E, Grant E R and Baum B J: b-adrenergic receptor regulation of N-linked protein glycosylation in rat parotid acinar cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1983, 80, S.7146 - 7150,
- 77 Kousvelari E E, Grant S R, Banerjee D K, Newby M J and Baum B J: Cyclic AMP mediates b-adrenergic-induced increases in N-linked protein glycosylation in rat parotid acinar cells. *Biochem J.* 1984, 22, S.18 - 24,
- 78 Kreusser W, Heiland A, Wigand M E, Knauf H: Mono- and divalent electrolyte patterns; pCO<sub>2</sub> and pH in relation to flow rate in normal human parotid saliva. *J Clin Invest.* 1972, 2, S.398,

- 79 Krüger B: In-vitro-Produktion von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  und Interleukin-1 $\beta$  bei Patienten mit rasch fortschreitender Parodontitis (RPP) im Verlauf der Therapie. Band Dissertation. Charité, Humboldt-Universität zu Berlin, 1995:
- 80 Lamberts B L, Meyer T S, Osborne R M: A comparative study of human parotid and submaxillary amylase. Arch oral Biol. 1971, 16, S.517,
- 81 Lang N P: Epidemiology of periodontal disease. Archs oral Biol. 1990, 35 Supplement, S.9 S - 14 S,
- 82 Lange D E: Parodontologie in der täglichen Praxis. Quintessenz Verlag, 1986:
- 83 Lashley K S: Reflex secretion of the human parotid gland. J exp Psychol. 1916, 1, S.461,
- 84 Lavine W S, Maderazo E G, Stolman J, Ward P A, Cogen R B, Greenblatt I, Robertson P B: Impaired neutrophils chemotaxis in patients with juvenile and rapidly progressive periodontitis. J Periodont Res. 1979, 14, S.10 - 19,
- 85 Levine M J, Tabak A, Reddy M, Mandel I D: Nature of salivary pellicles in microbial adherence. Role of salivary mucins. Hrsg.: Mergenhagen S E, Rosan B: Molecular basis of oral microbiol adhesion . 1. American Society for Microbiology, Washington, 1985: S.125 - 130,
- 86 Lie T: Morphologic studies on dental plaque formation. Acta Odontol Scand. 1979, 37, S.73 - 85,
- 87 Lindhe J, Westfelt E, Nyman S, Socransky S S and Haffajee A D: Longterm effect of surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. J Clin Periodontol. 1984, 11, S.448 - 458,
- 88 Lindhe J: Textbook of clinical periodontology. Munksgaard, Copenhagen, 1985:
- 89 Lindhe, J and Nyman, S: The effect of plaque control and surgical pocket elemination on the establishment and maintenance of periodontal health. A longitudinal study of periodontal therapy in cases of advanced disease. J Clin Periodontol. 1975, 2, S.67,

- 90 Loe H, Theilade E and Jensen S B: Experimental gingivitis in man. J Periodontol. 1965, 36, S.177 - 187,
- 91 Loesche W J, Gusberti F A, Mettraux G, Higgins T, Syed S A: Relationship between oxygen tension and subgingival bacterial flora in untreated periodontal pockets. Infection and Immunity. 1983, 42, S.659 - 667,
- 92 Lomberg H, Hanson L A, Jacobsson B, Jodal U, Leffler H and Svanborg Eden C: Correlation of P blood group, vesicoureteral reflux, and bacterial attachment in patients with recurrent pyelonephritis. The New England Journal of Medicine. 1993, Vol 308 No. 20, S.1189 - 1192,
- 93 Magnusson I, Walker C B: Refractory periodontitis or recurrence of disease. J Clin Periodontol. 1996, 23, S.289 - 292,
- 94 Makinen K K: Salivary enzymes. Hrsg.: Tenovuo J: Human saliva: Clinical chemistry and microbiology. Band 2. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1989:
- 95 Melnick M E, Shields D, Bixler D: Periodontosis: a phenotypic and genetic analysis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1976, 42, S.32 - 41,
- 96 Morrison E C, Ramfjord, S P and Hill R W: Short-term effects of initial treatment (hygienic phase). J Clin Periodontol. 1980, 7, S.199,
- 97 Mullally B H, Breen B, Linden G J: Smoking and patterns of bone loss in early-onset periodontitis. J Periodontol. 1999, 70 (4), S.394 - 401,
- 98 Münzel M: Die Biochemie der menschlichen Speicheldrüsensekrete. Arch Oto-Rhino-Laryng. 1976, 213, S.209 - 285,
- 99 Nakamura M and Slots J: Salivary enzymes. Origin and relationship to periodontal disease. J Periodont Res. 1983, 18 (6), S.559 - 569,
- 100 Navazesh M and Christensen C M: A comparison of whole mouth resting and stimulated salivary measurement procedures. J Dent Res. 1982, 61, S.1158,



- 101 Neeser J R, Koellreutter B and Wuersch P: Oligomannoside-type glycopeptides inhibiting adhesion of Escherichia coli strains mediated by type 1 pili: Preparation of potent inhibitors from plant glycoproteins. Infect Immun. 1986, 52 Nr. 2, S.428 - 436,
- 102 Neiders M E, Chen P B, Suido H et al: Heterogeneity of virulence among strains of Bacteroides gingivalis. J Periodont Res. 1989, 24, S.192 - 198,
- 103 Nomenclature Committee of IUB (NC - IUB) IUB - IUPAC Joint Commission on Biochemical Nomenclature ( JBCN): Newsletter 1981. Arch Biochem Biophys. 1981, 206, S.458 - 462,
- 104 O'Connell A C, van Wuyckhuysen B C, Pearson S K and Bowen W H: The effect of propranolol on salivary gland function and dental caries development in young and aged rats. Archs Oral Biol. 1993, 38 (10), S.853 - 861,
- 105 Okamoto Y, Sakai H, Sato J and Akamatsu N: Effects of dibutyl cyclic AMP on the synthesis of dolichol-linked saccharides and glycoproteins in cultured hepatoma cells. Biochem J. 1983, 212, S.859 - 867,
- 106 Okuda K, Slots J and Genco R J: Bacteroides gingivalis, Bacteroides asaccharolyticus, and Bacteroides melanogenicus subspecies: Cell surface morphology and adherence to erythrocytes and human buccal epithelial cells. Current Microbiology. 1981, 6, S.7 - 12,
- 107 Page R C and Schroeder H E: Periodontitis in Man and Other Animals. S. Karger, Basel, 1982: S.330 pp,
- 108 Page R C, Altman L C, Ebersole J L, Vandesteen G E, Dahlberg W H, Williams B L, Osterberg S K: Rapidly Progressive Periodontitis. A Distinct clinical Condition. J Periodontol. 1983, 54, S.197 - 209,
- 109 Page R C: Genetische Faktoren parodontaler Erkrankungen. In: Kongressberichte; 4th North Sea Conference on Periodontology, 9. bis 11. Juni 1995. Parodontologie. 1995, 3, S.253,

- 110 Palmer R M, Matthews J P, Wilson R F: Non-surgical periodontal treatment with and without adjunctive metronidazole in smokers and non-smokers. J Clin Periodontol. 1999, 26 (3), S.158 - 163,
- 111 Pedersen W, Schubert M, Izutsu K, Mersai T and Truelove E: Age-dependant decrease in human submandibular gland flow rates as measured under resting and post-stimulation conditions. J Dent Res. 1985, 64 (5), S.822 - 825,
- 112 Pedrazzoli V, Kilian M and Karring T: Comparative clinical and microbiological effects of topical subgingival application of metronidazole 25% dental gels and scaling in the treatment of adult periodontitis. Antimicrobial treatment in periodontics, proceedings of a symposium in Copenhagen. Denmark, 1992: S.40 - 42,
- 113 Petit M D A, Van Sternberg T J M et al: Transmission of Actinobacillus actinomycetemcomitans in families of adult periodontitis. J Periodont Res. 1993 (a), 38, S.335 - 345,
- 114 Petit M D A, Van Sternberg T J M et al: Epidemiology and transmission of Porphyromonas gingivalis and Actinobacillus actinomycetemcomitans among young children and their family members. J Clin Periodontol. 1993 (b), 20, S.641 - 650,
- 115 Phelps C F: Biosynthesis of mucus glycoproteins. British Medical Bulletin. 1978, 34 Nr. 1, S.43 - 48,
- 116 Pickerill H P: The prevention of dental caries and oral sepsis. 2. Paul B. Hoeber Inc., New York, 1919:
- 117 Pössel C: Parodontose-Therapie im Wandel der Zeiten. Schriftensammlung zum 60. Geburtstag Weskis. Max Gehlen Verlag, 1939:
- 118 Proctor G B: Secretory protein synthesis and constitutive (vesicular) secretion by salivary glands. Hrsg.: Garrett J R, Ekström J and Anderson L C: Glandular mechanisms of salivary secretion. Front Oral Biol. Band 10.

- Karger, Basel, 1998: S.73 - 88,
- 119 Prokop o, Uhlenbruck G und Köhler W: Protektine, eine neue Klasse antikörperähnlicher Verbindungen. Dtsch. Gesundheitswesen. 1968, 23, S.318 - 320,
- 120 Quissell D O: Stimulus-exocytosis coupling mechanism in salivary gland cells. Hrsg.: Dobrosielski-Vergona K: Biology of the salivary glands. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1993:
- 121 Raedler A and Raedler E: The use of lectins to study normal differentiation and malignant transformation. J Cancer Res Clin Onkology. 1985, 10, S.245 - 251,
- 122 Ramfjord SP: Indices for prevalence and incidence of periodontal disease. J Periodontol. 1959, 30, S.51 - 95,
- 123 Rateitschak E und Wolf H F: Farbatlanten der Zahnmedizin; Parodontologie. Band 1. 2. Thieme, Stuttgart/New York, 1989: S.75,
- 124 Rose M C: Charakterisation of human tracheobronchial mucin glycoprotein. Methods in Enzymology. 1989, 179, S.3 - 17,
- 125 Russel A L: A system of classification and scoring for prevalence surveys of periodontal disease. J Dent Res. 1956, 35, S.350 - 359,
- 126 Ryberg M, Johannsson I, Ericson T, Mörnstad H, Hendriksson R, Jönsson G and Sundström S: Effects of chronic stimulation of salivary gland b-adrenoceptors on saliva composition and caries development in the rat. J Oral Pathol Med. 989, 18, S.529 - 532,
- 127 Saxby M S: Juvenile periodontitis: an epidemiological study in the west Midlands of the United Kingdom. J Clin Periodontol. 1987, 14, S.594 - 598,
- 128 Saxen L: Heredity of juvenile periodontitis. J Clin Periodontol. 1980, 7, S.276 - 288,
- 129 Schauer R: Sialic acids and their role as biological masks. Trends Biochem Sci.

- 1985, *10*, S.357 - 361,
- 130 Schneyer L H: Method for the collection of separate submaxillary and sublingual salivas in man. *J Dent Res.* 1955, *34*, S.257 - 261,
- 131 Schroeder H E: Pathobiologie oraler Strukturen: Zähne, Pulpa, Parodont. Karger, Basel, 1991:
- 132 Seemann R: Antiadhäsiv wirkende Speichelfaktoren und Kariesbefall zehnjähriger Kinder. Band Dissertation. Charité, Humboldt-Universität zu Berlin, 1996:
- 133 Sharon N and Lis H: Zellerkennung und Kohlenhydrate. *Spektrum der Wissenschaft.* 1993, *März*, S.66 - 74,
- 134 Sharon N: Lectin receptors as lymphocyte surface markers. *Adv Immunol.* 1983, *34*, S.213 - 298,
- 135 Slots J and Gibbons R J: Attachment of *Bacteroides melanogenicus* subsp. *asaccharolyticus* to oral surfaces and its possible role in colonisation of the mouth and of periodontal pockets. *Infect Immun.* 1978, *19 (1)*, S.254 - 264,
- 136 Slots J und Van Winkelhoff A J: Antimikrobielle Therapie in der Parodontologie. *Phillip Journal.* 1995, *9*, S.413 - 418,
- 137 Slots J, Zambon J J, Rosling B G, Reynolds H S, Christersson L A, Genco A J: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. Association, serology, leucotoxicity and treatment. *J Periodont Res.* 1982, *17*, S.447 - 448,
- 138 Socransky S S and Haffajee A D: The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Current concepts. *J Periodontol.* 1992, *63 (4)*, S.322 - 331,
- 139 Socransky S S, Haffajee A D, Dzink J L and Hillman J D: Association between microbial species in subgingival plaque samples. *Oral Microbiol Immunol.* 1988, *3 (1)*, S.1 - 7,

- 140 Stephen K W, Lamb A B and McCrossan J: A modified appliance for the collection of human submandibular and sublingual salivas. Arch oral Biol. 1978, 23, S.835 - 837,
- 141 Stillmark H: Über Ricin. Hrsg.: Koch R: Arbeiten des pharmakologischen Instituts zu Dorpat. Enke Verlag, Stuttgart, 1889: S.59 - 151,
- 142 Suber J F, Boackle R J, Javed T and Vesely J: Parotid saliva agglutinins for sheep erythrocytes as a measure of ongoing inflammation in periodontal disease. J Periodontol. 1984, 55 (9), S.512 - 515,
- 143 Tanner A C R: Is the specific plaquehypothesis still tenable?. Hrsg.: Guggenheim B: Peridontologie today. Karger, Basel, 1988:
- 144 Tenovuo J: Nonimmunoglobulin defense factors in human saliva. Hrsg.: Tenovuo J: Human saliva: Clinical chemistry and microbiology. Band 2. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1989:
- 145 Tenovuo J and Larjava H: The protektive effekt of peroxidase and thiocyanate against hydrogen peroxide toxicity assessed by the uptake of 3H-thymidine by uman gingival fibroblasts cultured in vitro. Arch Oral Biol. 1984, 29, S.445 - 451,
- 146 Tenovuo J, Mansson-Rahemtulla B, Pruitt K M and Arnold R R: Inhibition of dental plaque acid produktion by the salivary laktoperoxidase system. Inf Immun. 1981, 34, S.208 - 214,
- 147 Theilade J: Dental plaque and dental calculus. Textbook of clinical Periodontology. Munksgaard, Kopenhagen, 1989:
- 148 Theilande E: The non-specific theorie in microbial etiologie of inflammatory periodontal disease. J Clin Periodontol. 1986, 13, S.905 - 911,
- 149 Tolson N D, Daley T D and Wysocki G P: Lektin probes of glycoconjugates in human salivary glands:1. Journal of Oral Pathology. 1985, 14, S.523 - 530,
- 150 Tonetti M S: Cigarette smoking and periodontal diseases: etiology and

- management of disease. *Ann Periodontol.* 1998, 3 (1), S.88 - 101,
- 151 Truelove E L, Bixler D and Merritt D: Simplified method for collection of pure submandibular saliva in large volumes. *J Dent Res.* 1967, 46 (6), S.1400 - 1402,
- 152 Turner R J: Ion transport related to fluid secretion in salivary glands. Hrsg.: Dobrosielski-Vergona K: *Biology of the salivary glands.* CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1993:
- 153 Uhlenbruck G und Klein P-J: Die praktische Bedeutung von Lektinen. Sonderdruck Deutsches Ärzteblatt - Ärztliche Mitteilungen. 1984, 4, S.1 - 2,
- 154 Van Dyce T E, Offenbacher S, Kalmar J, Arnold R R: Neutrophil defects and host - parasite interactions in the pathogenesis of localized juvenile periodontitis. *Adv Dent Res.* 1988, 2, S.354 - 358,
- 155 Van Sternberg T J M, Petit M D A et al: Transmission of *Porphyromonas gingivalis* between spouses. *J Clin Periodontol.* 1993, 20, S.340 - 345,
- 156 Verbert A, Cacan R and Cecchelli R: Membrane transport of sugar donors to the glycolisation sites. *Biochimie.* 1987, 69, S.91 - 99,
- 157 Watanabe T, Okata N, Morishita M and Iwamoto Y: Correlation between protease activities and the number of epithelial cells in human saliva. *J Dent Res.* 1981, 60, S.1039 - 1044,
- 158 Weinberg A and Holt S C: Interaction of *Treponema denticola* TD-4, GM-1, and MS25 with human gingival fibroblasts. *Infect Immun.* 1990, 58 Nr.6, S.1720 - 1729,
- 159 Wolf R O: Regulated vacuum system for collecting submaxillary and sublingual saliva. *J Dent Res.* 1964, 43, S.303,
- 160 Wolff L, Dahlèn G, Aepli D: Bacteria as risk markers for periodontitis. *J Periodontol.* 1994, 64, S.498 - 510,
- 161 Wu A M, Sugii S and Herp A: A table of lectin carbohydrate specificities.

Lectins - Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry. 6. Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri USA, 1988:

162 Yamazaki Y, Ebisu S and Okada H: Eikenella corrodens adherence to human buccal epithelial cells. Infect Immun. 1981, *31 Nr. 1*, S.21 - 27,

163 Zambon J J, Grossi S G, Machtei E E, Ho A W, Dunford R, Genco R J:  
Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with  
periodontal pathogens. J Periodontol. 1996, *67 (Suppl. 10)*, S.1050 – 1054

## Anhang

### 1 Materialien und Geräte für die Untersuchung

#### 1.1 Laborgeräte und Instrumente

- 96-well Mikrotiterplatten (Nunc GmbH Deutschland, Wiesbaden)
- Eppendorf Multipette® (Eppendorf, Berlin)
- Eppendorf Zentrifuge 5415c (Eppendorf, Berlin)
- Gefrierschrank (-20°C) (Liebherr)
- Gefrierschrank (-80°C)
- Greiner-Röhrchen (Greiner, Nürtingen)
- Inkubator Heraeus VT 5042 EK (Heraeus Holding GmbH, Hanau)
- Kühlschrank (4°C) (Liebherr)
- Lagerungskästen für Greiner-Röhrchen (Greiner, Nürtingen)
- Multikanalpipette (Capp, Dänemark)
- Pipettenspitzen (R. Brand GmbH & Co, Wertheim)
- Satorius Analysenwaage (Satorius GmbH, Göttingen)
- Schüttler IKA MTS 4 (IKA Labortechnik, Staufen i. Br.)
- Spektralphotometer Dynatech MR 7000 (Dynatech, Denkendorf)
- Waschautomat Dynatech MR 7000 (Dynatech, Denkendorf)

#### 1.2 Puffer

- Proben - Verdünnungspuffer:  
PBS + 150mM NaCl (= 0,766 g/l)
- Lektinassay - Puffer  
PBS  
+ 150 mM NaCl/l  
+ 0,05 mM CaCl<sub>2</sub>/l  
+ 0,1 mM MnCl<sub>2</sub>/l  
+ 2,0 mM MgCl<sub>2</sub>/l



- + 0,025 mM  $\text{ZnCl}_2/\text{I}$
- + 0,2% TWEEN (Sigma Biochemica, Deisenhofen)

- Wasch - Puffer:  
PBS + 0,05% TWEEN (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- Phosphatpuffer (PBS) für Beschichtung:  
1,2g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 8,22g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  / l , pH=7,6

### 1.3      Lektine

- Biotinylierte pflanzlichen Lektine (Sigma Biochemica, Deisenhofen & Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim)  
Die jeweilige Bindungsspezifität ist der Tabelle 4, die zur Beschichtung verwendeten Glykokonjugate und Standards sind der Tabelle 5 zu entnehmen.

### 1.4      Standards und Beschichtungen

- BSA- $\alpha$ -Mannopyranosid (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- BSA-Fukosylamid (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- BSA-Galaktosamin (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- BSA-Galaktose-1,3-N-Acetyl-Galaktosamin (Janssen Biochemica, Beerse, Belgien)
- BSA-N-Acetyl-Galaktosamin (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- Fetuin (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- Fucose (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- Kontrolle (Ansatz für 30ml)
  - $\alpha$ -Methyl-Mannopyranosid    15mmol (87,39 mg)
  - N-Acetyl-Galaktosamin    10mmol (66,36 mg)
  - Methyl- $\alpha$ -Galaktopyranosid    15mmol (87,39 mg)
  - Fucose    25mmol (123,15 mg)
  - N-Acetyl-Neuramin-Laktose    1:60 (500 $\mu$ l)
  - Mannan    1:3000 (10 $\mu$ l)
  - N-Acetyl-Glukosamin    30mmol
  - Kontrollserum (Albumin)    1:20000 1,5 $\mu$ l
  - + 29 584  $\mu$ l steriles Aqua dest
- Mannan (Sigma Biochemica, Deisenhofen)

- Methyl- $\alpha$ -D-Galaktopyranosid (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- Methyl- $\alpha$ -Mannopyranosid (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- Muzinpräparation
- N-Acetyl-Galaktosamin (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- N-Acetyl-Glukosamin (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- N-Acetyl-Neuramin-Laktose (Sigma Biochemica, Deisenhofen)
- N-Acetyl-saures-Glykoprotein (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim)

### 1.5      Färbung

- Tetramethylbenzidin (TMB) - Färbepuffer  
1% TMB-Substrat in GALLATI-Puffer

TMB-Substrat:

240mg TMB + 5 ml DMSO (Dimethyl-Sulfon-Oxid) + 5ml Ethanol  
(Fluka-Chemie, Buchs, Schweiz)

GALLATI-Puffer:

8,4g Zitronensäure-Monohydrat auf 160ml Aqua dest. mit 4N KOH auf  
ph-Wert 3,95 einstellen und auf 200 ml mit Aqua dest. auffüllen. Zur  
Fertigstellung 68  $\mu$ l 30%tiges  $H_2O_2$  dazugeben (in dunkler Flasche ca. 3  
Wochen im Kühlschrank lagerbar).

- Streptavidin, gekoppelt mit Peroxidase als sekundäres Konjugat: (Calbiochem Corporation, La Jolla, USA)

**Abkürzungsverzeichnis**

$^{14}\text{C}$	Kohlenstoffisotop mit der Atommasse 14
Aa	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
AAA	<i>Anguilla anguilla</i> Agglutinin
AIDS	Aquired Immune Deficiency Syndrome
BSA	Bovines Serumalbumin
cAMP	cyclo-Adenosinmonophosphat
ConA	Concanavalin A
E.Coli	<i>Escherichia Coli</i>
ER	endoplasmatisches Retikulum
GalNAc	N-Acetylgalaktosamin
Gl.	Glandula
Glc	Glukose
GlcNAc	N-Acetylglukosamin
GII.	Glandulae (Plural)
GNA	<i>Galantus nivalis</i> Agglutinin
GS1	<i>Griffonia simplicifolia</i> Agglutinin
IgA	Immunglobulin A
kDa	Kilodalton
Man	Mannose
N.	Nervus
nm	Nanometer

Nn.	Nervi (Plural)
PBS	Phosphatpuffer
PNA	Peanut Agglutinin
PRP	prolinreiches Glykoprotein
RPP	rasch fortschreitende Parodontitis
Ser	Serin
SNA	Sambucus nigra Agglutinin
spp	Subspezies
Thr	Threonin
TMB	Tetramethylbenzidin
VVA	Vicia villosa Agglutinin
WGA	Wheat germ Agglutinin

**Danksagung**

Diese Arbeit entstand über einen Zeitraum von neun Jahren. Sie begleitete mich bis jetzt durch mein gesamtes Berufsleben nach dem Studium. In der Zeit hat es bei mir nicht nur berufliche Veränderungen gegeben, auch private Ereignisse führten zu Verzögerungen bei der Fertigstellung der Arbeit. Sie hat mich sogar für ein Jahr bis an das schönste Ende der Welt begleitet, nach Kapstadt in Südafrika. Allen, die in irgend einer Weise mit Rat und/oder Tat an dieser Arbeit beteiligt waren, gebührt großer Dank für ihre Geduld.

Folgenden Personen möchte besonders für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit danken:

- Dr. Andreas Kage für die Überlassung des Themas und die Betreuung während der langen Entstehungsgeschichte der Arbeit, die auf elektronischem Wege selbst in Südafrika aufrecht erhalten wurde.
- Professor Dr. Dr. J.-P. Bernimoulin für die freundliche Aufnahme in seine Abteilung. Ich wurde dort mehr wie ein Mitarbeiter behandelt als wie ein externer Doktorand.
- Dr. Stefan Hägewald für die Betreuung des patientenbezogenen Teils der Arbeit und die Beratung bei der Behandlung der RPP-Patienten.
- Michaela Steinrücke für ihre Hilfe bei der Entnahme der Speichelproben.
- Dr. Rainer Seemann für die Unterstützung bei der Suche und Auswahl von Literatur
- Dietrich Wernicke für die geduldige Hilfe bei EDV-Problemen
- Allen Probanden für die Bereitschaft, die Speichelentnahme über sich ergehen zu lassen
- Petra Busse für die Hilfe bei der labortechnischen Arbeit.

**Lebenslauf**

Mathias Jancke      geb. 06.04.1959 in Frankfurt/Main

Juni 1978      Abitur am Gymnasium Altona in Hamburg  
Okt. 78 - März 79      Wehrdienst an der Marineortungsschule, Bremerhaven  
Okt. 79 - Okt. 82      Jurastudium, bis April 1981 in Hamburg, danach in  
Freiburg i. Br.

**Berufsausbildung**

Okt. 82 - Juli 83      Praktikum im Dentallabor Woerner in Freiburg i. Br.  
Aug. 83 - Feb. 86      Ausbildung zum Zahntechniker

**Berufspraxis**

März 86 - Okt. 86      Beschäftigung als Techniker im Dentallabor Woerner  
Nov. 86 - Dez. 86      Techniker in Dentallabor Josef Vider in Johannesburg

**Studium**

April 87      Beginn des Zahnmedizinstudiums an der FU – Berlin  
März 88      Naturwissenschaftliche Vorprüfung  
Aug. 89      Physikum  
Feb. - 15. April 91      Famulatur im Port Antonio Health Center, Jamaica  
Juli 92      Examen an der Zahnklinik Nord der FU – Berlin

**Berufspraxis**

Okt. 92 - Feb. 93      Ausbildungsassistent in der Praxis Rolf Simon in  
Berlin - Mariendorf

Feb. 93 - März 95	Ausbildungsassistent in der Praxis Heyne & Bock in Berlin - Charlottenburg
April 95 - März 98	Kassenzulassung in Praxisgemeinschaft mit Wolfgang Bock in Berlin - Charlottenburg
Aug. 97 - Dez. 97	Zahnarzt im Department of Maxillo - Facial - Surgery, Tygerberg Hospital, University of Stellenbosch, Südafrika
Aug. 97 - Juni 98	Freier Mitarbeiter im Newvision Dental Laboratory, Cape Town, Südafrika
Jan. 98 - Juni 98	Supervisor in der Studentenausbildung im Department of Conservative Dentistry, University of the Western Cape, Südafrika
Nov. 98 - Juni 98	Freie Mitarbeit in der Praxis Dr. Marcus Otto, Cape Town
Juli 98 - Sept. 98	Vertreter von Zahnarzt Wolfgang Bock, Berlin
Okt. 98 - Dez. 98	Entlastungsassistent bei Zahnarzt Wolfgang Bock
Sept. 98 - Dez. 98	Mitarbeiter auf Honorarbasis der Abteilung für Parodontologie und Synoptische Zahnmedizin der Charité, Humboldt - Universität zu Berlin
Seit Jan. 99	Niedergelassen in Gemeinschaftspraxis mit Dr. Birgit Henschel in Hamburg Winterhude

## **Erklärung**

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, daß die Arbeit von mir selbst und ohne unzulässige Hilfe Dritter angefertigt wurde.

Die Arbeit stellt auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten dar und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur sind vollständig angegeben.

Mathias Jancke